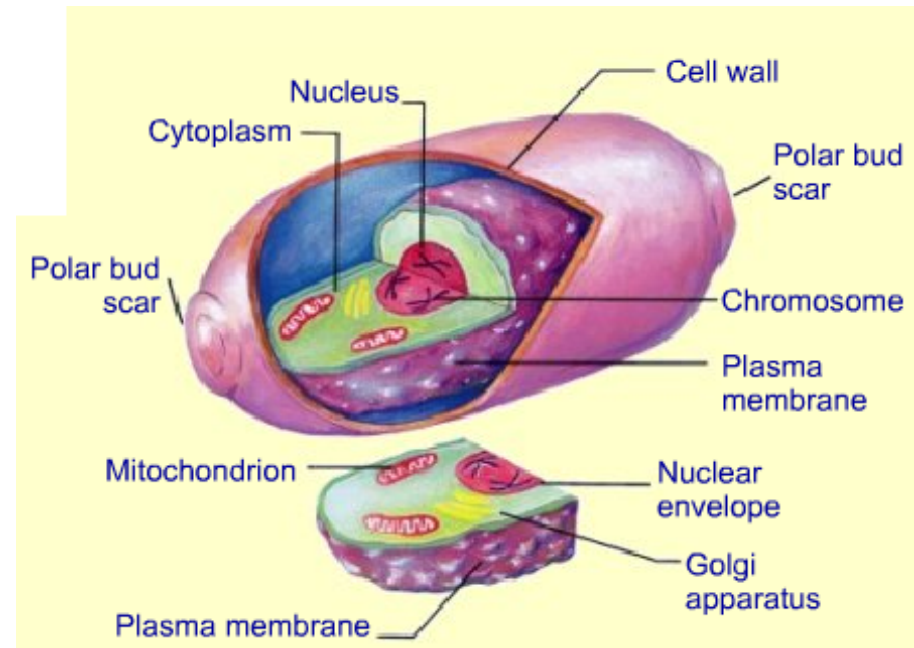
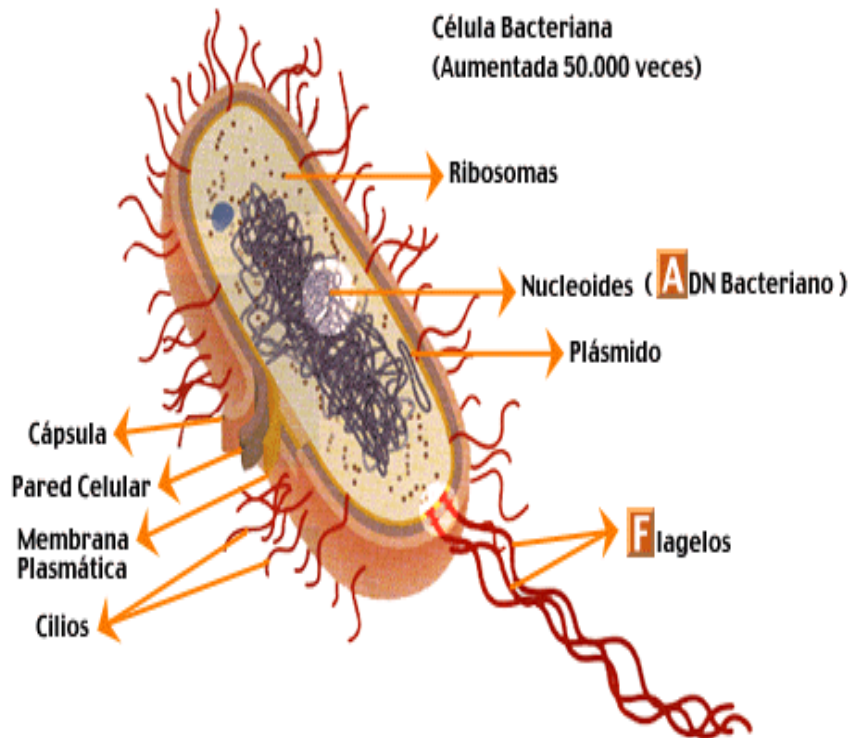
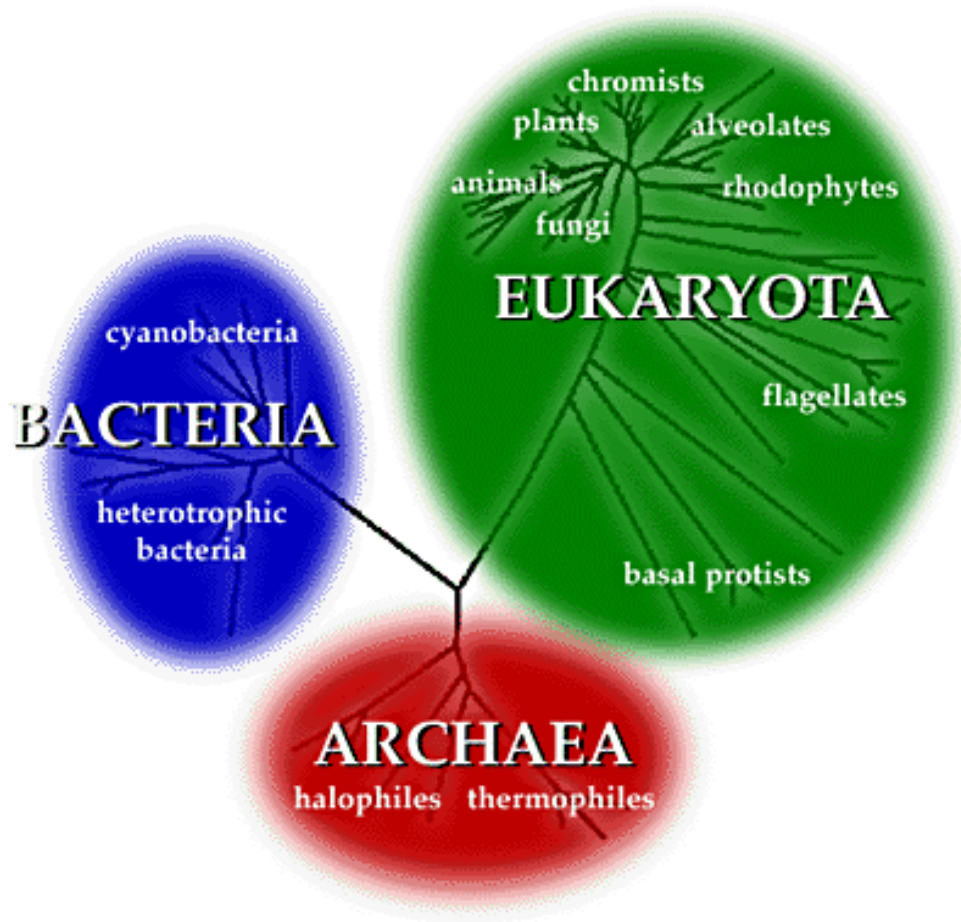


Procariotes y Eucariotes





Dominios

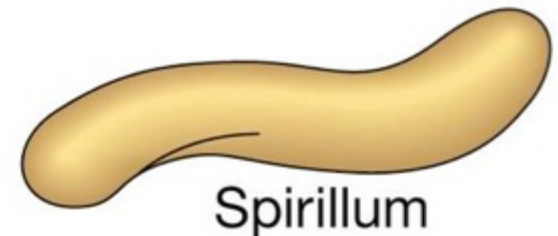
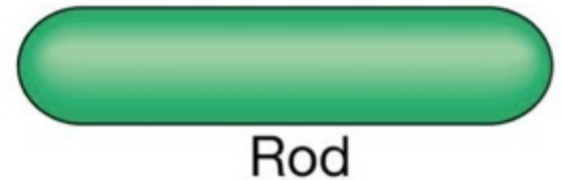
Características nucleares						
Reino	Bacteria	Archaea	Protista	Fungi	Plantae	Animalia
Tipo celular	Procariótico		Eucariótico			
Envoltura Nuclear	✕		✓			
Cromosomas	Molécula de DNA única y continua		Múltiple, consistente en DNA e histonas			
Características extracelulares						
Reino	Bacteria	Archaea	Protista	Fungi	Plantae	Animalia
Pared celular	Sin celulosa, (otros polisacáridos y peptidoglicanos)	Ausencia de peptidoglicanos	Presente en algunas formas, varios tipos	Quitina y otros polisacáridos celulósicos	Celulosa y otros polisacáridos	✕
Membrana Celular	✓	Presente, con lípidos inusuales de distinta composición	✓	✓	✓	✓

		Citoplasma				
Reino	Bacteria	Archaea	Protista	Fungi	Plantae	Animalia
Ribosomas	Pequeños		Más grandes			
Retículo Endoplásmico	✗	✗	✓	✓	✓	✓
Mitocondrias	✗	✗	Habitualmente presente	✓	✓	✓
Plástidos	✗	✗	Presentes en alguna forma	✗	✓	✗
Complejos de Golgi	✗	✓	✓	✓	✓	✓
Lisosomas	✗	✗	Habitualmente presentes	Habitualmente presentes	Estructuras similares (compartimientos lisosómicos presentes)	Habitualmente presentes
Peroxisomas	✗	✗	Frecuentemente presentes	Presentes en alguna forma	Habitualmente presentes	Habitualmente presentes
Vacuolas	✗	✗	✓	✓	Habitualmente un único vacuolo grande en la célula madura	Pequeño o ausente
Centríolos	✗	✗	Habitualmente presentes	✗	✗ presentes sólo en plantas con flor	✓
Cilios o flagelos 9+2	✗	✗	Habitualmente presentes	✗	✗ presentes sólo en plantas con flor	Habitualmente presentes

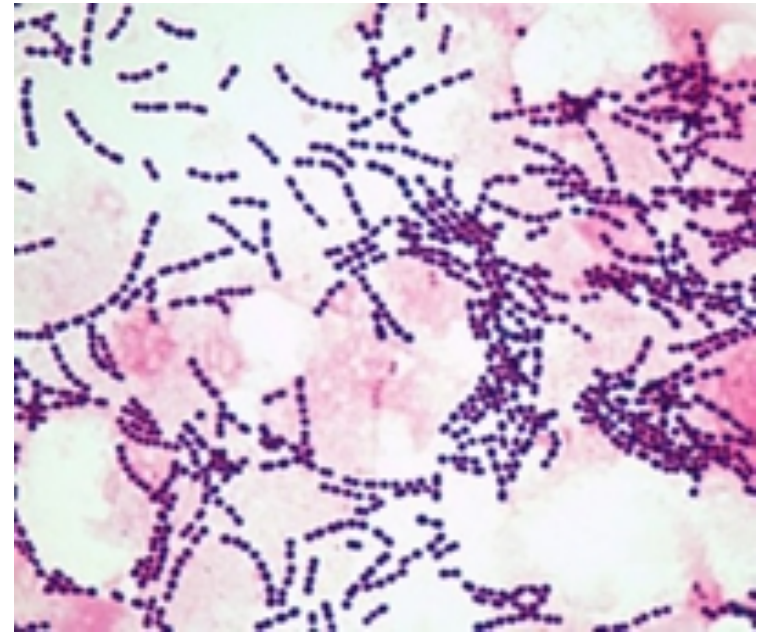
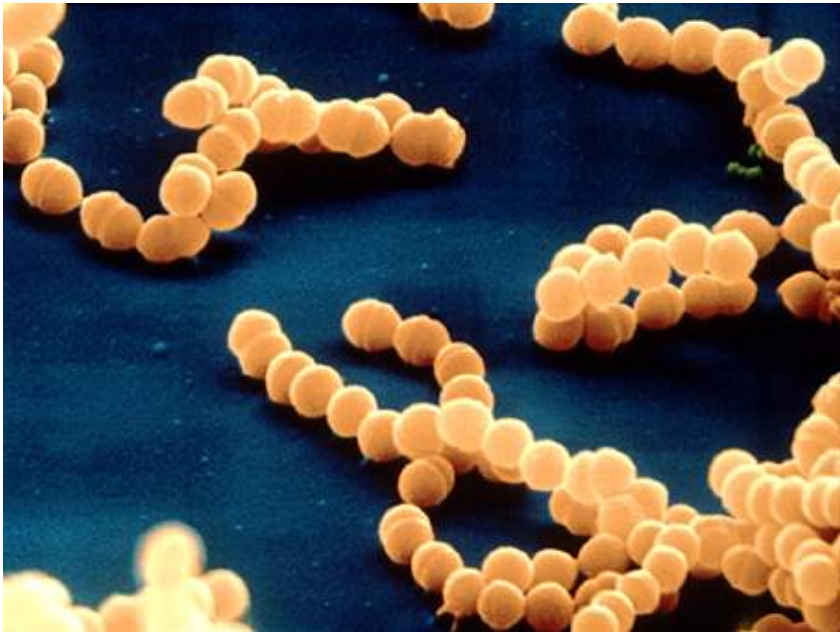
Bacterias: Morfología celular

- Principales morfologías celulares

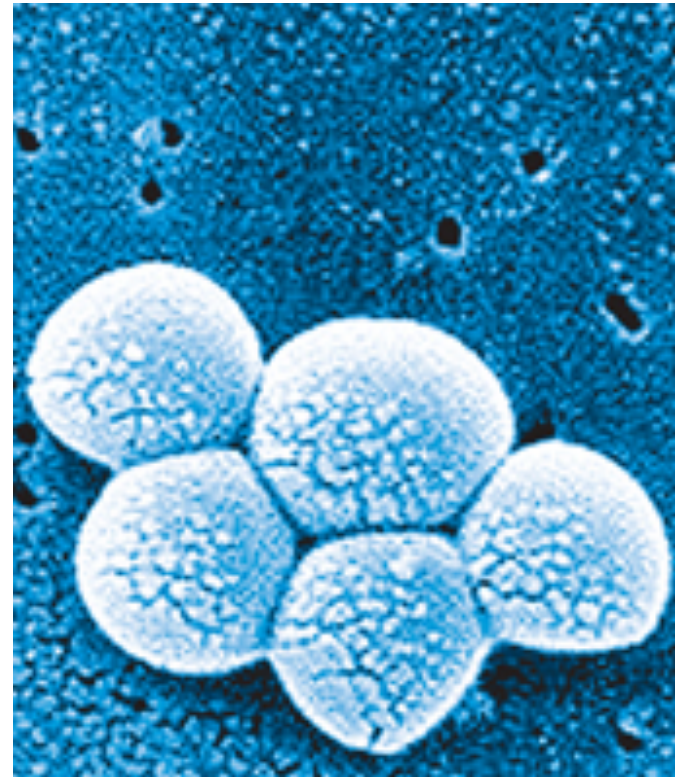
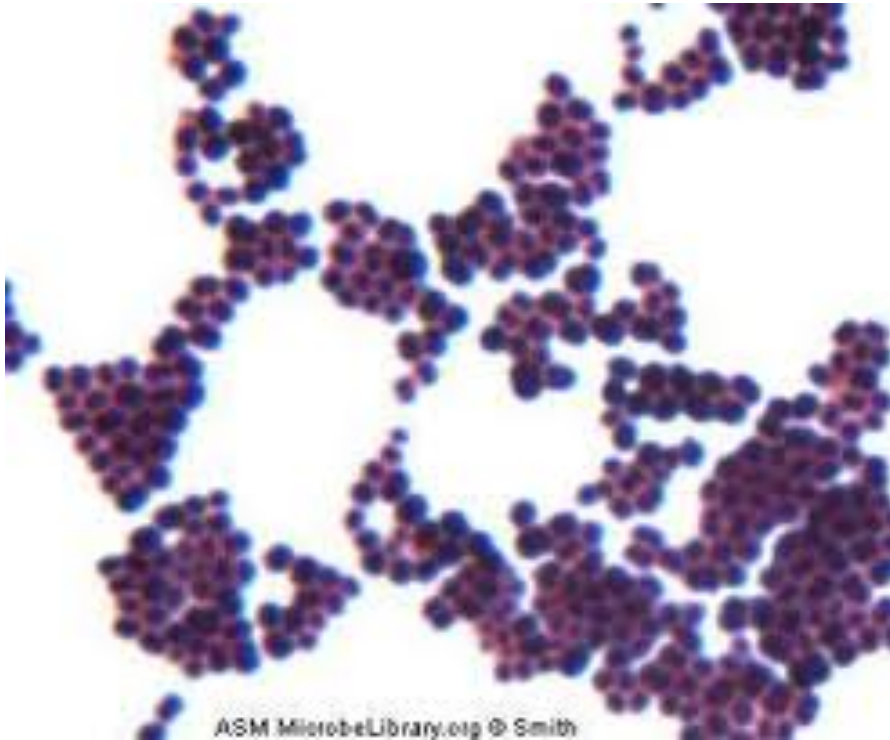
- Cocos
- Bastones (Bacilos)
- Espirales



Cadenas: *Streptococcus*

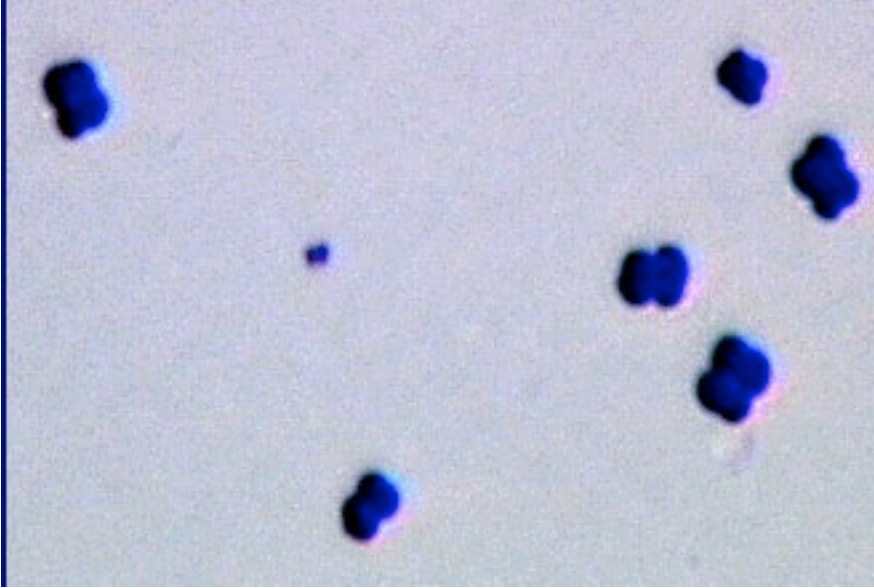


Racimos: *Staphylococcus*

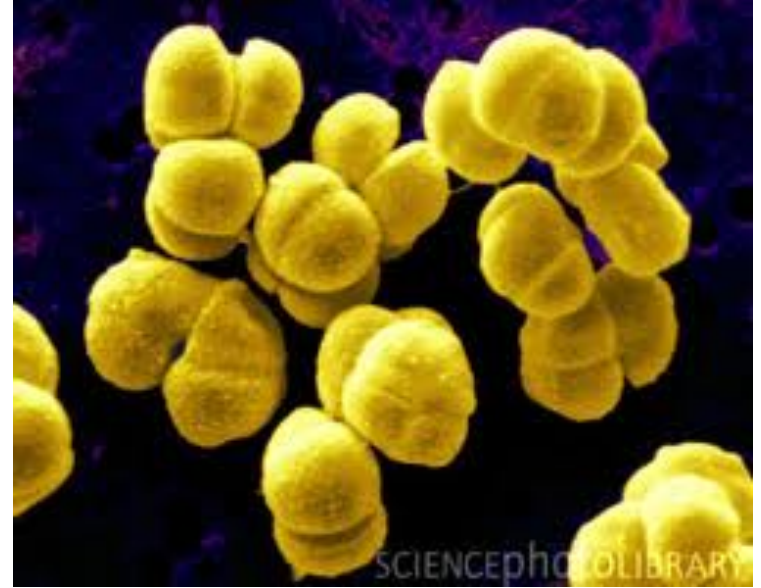


<http://www.wales.nhs.uk/sites3/page.cfm?orgid=379&pid=13004>

Tetradas: *Sarcina*

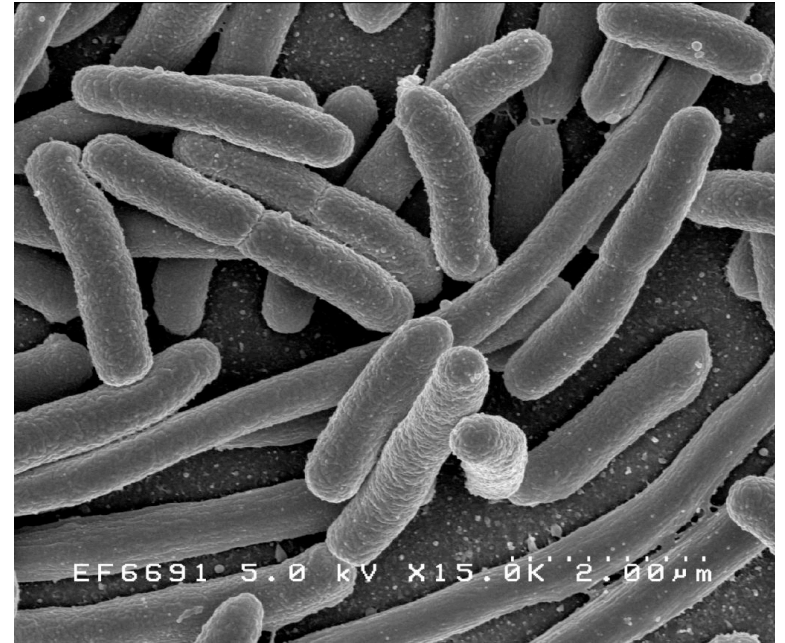


<http://www.mesacc.edu/~johnson/labtools/Dbacyst/sarcina.html>

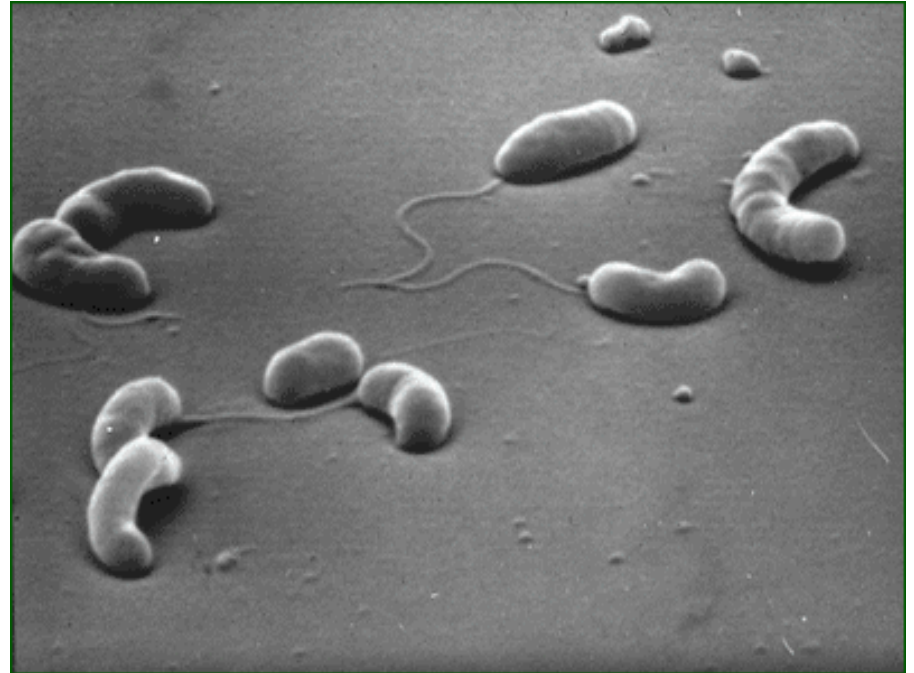
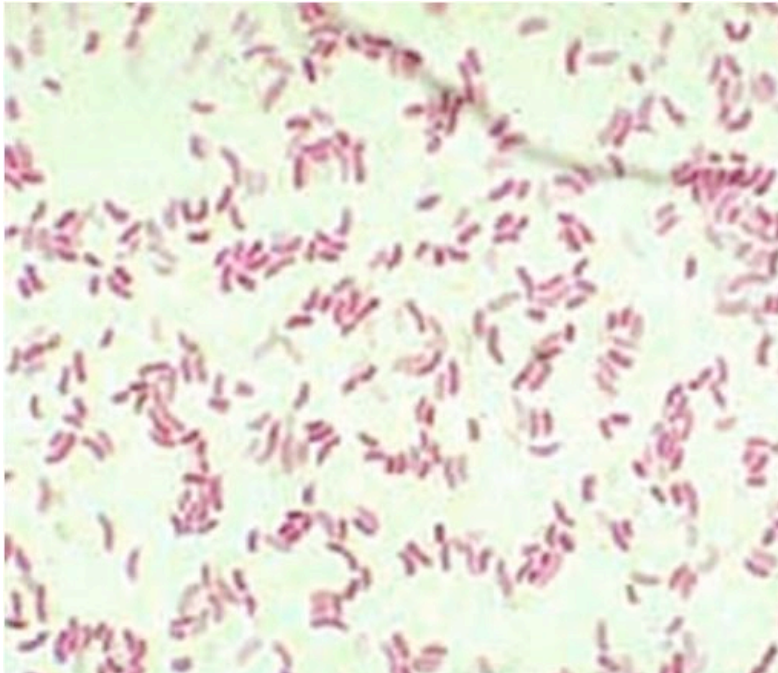


<http://www.sciencephoto.com/media/12150/view>

Escherichia coli

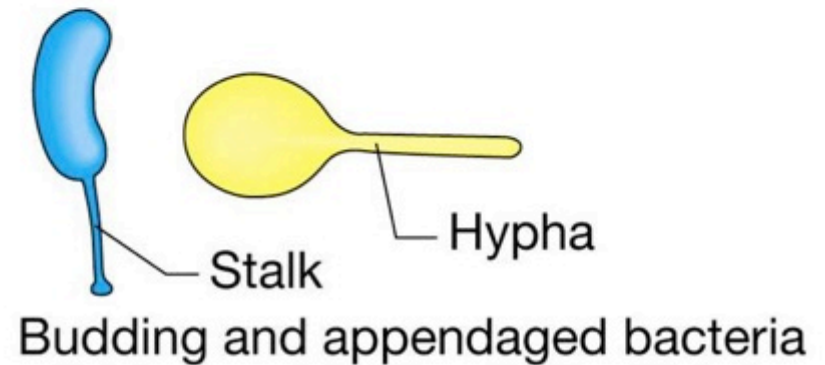
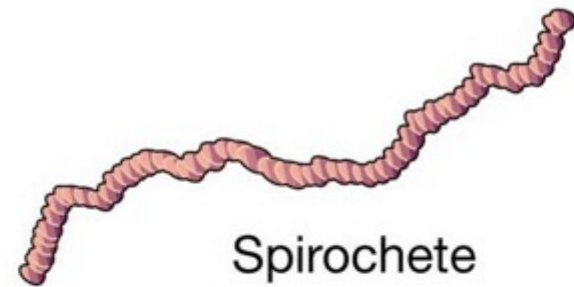


Vibrio cholera



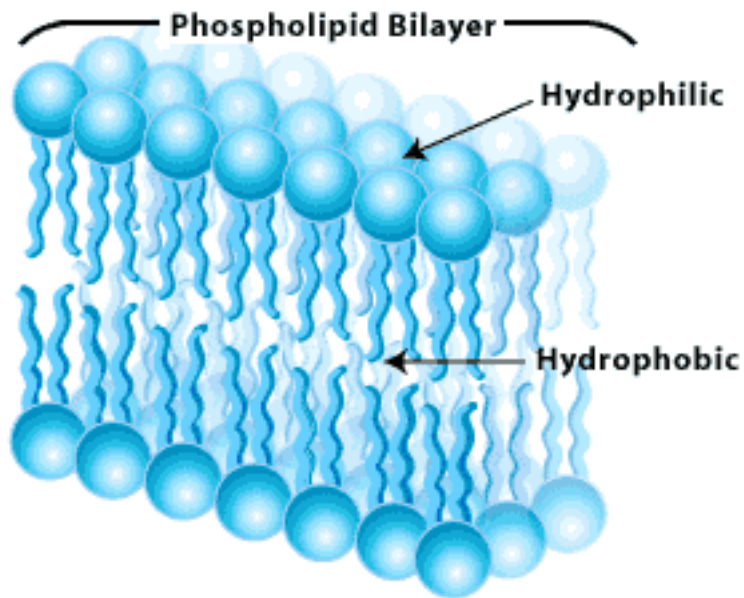
- Algunas bacterias presentan formas especiales que permiten reconocerlas fácilmente:

- Espiroquetas
- Apendiculadas
- Filamentosas



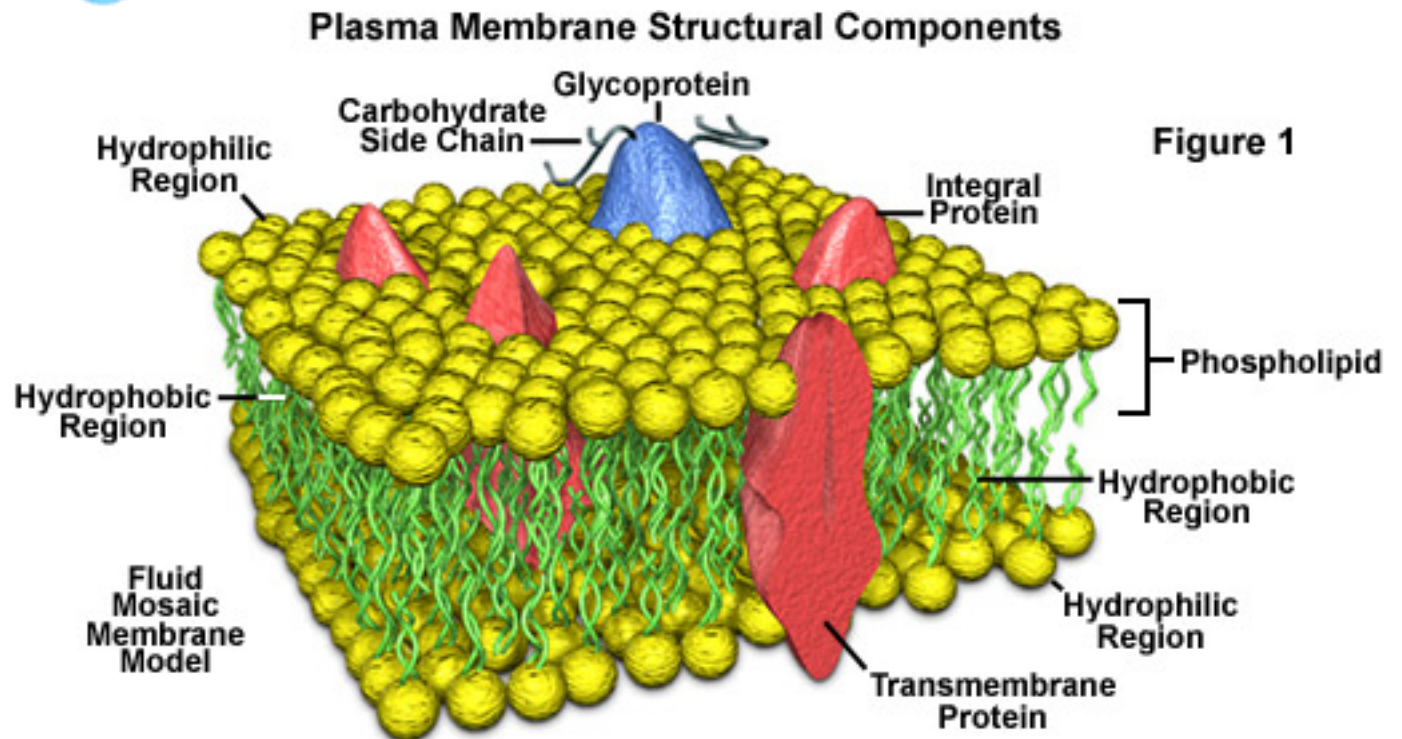
Membrana citoplasmática

- Barrera permeable altamente selectiva
- Está constituida por
 - Lípidos
 - Proteínas
 - Bicapa con zonas hidrofóbicas e hidrofílicas.



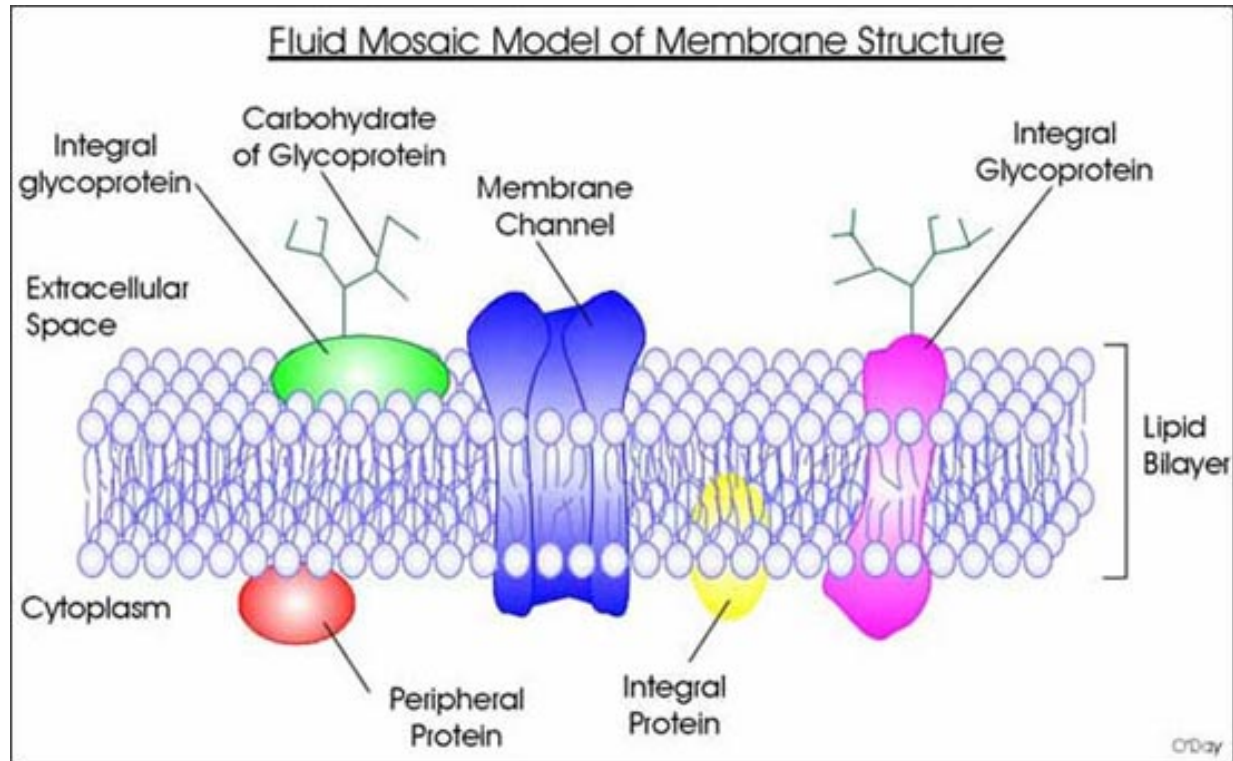
Hopanoides

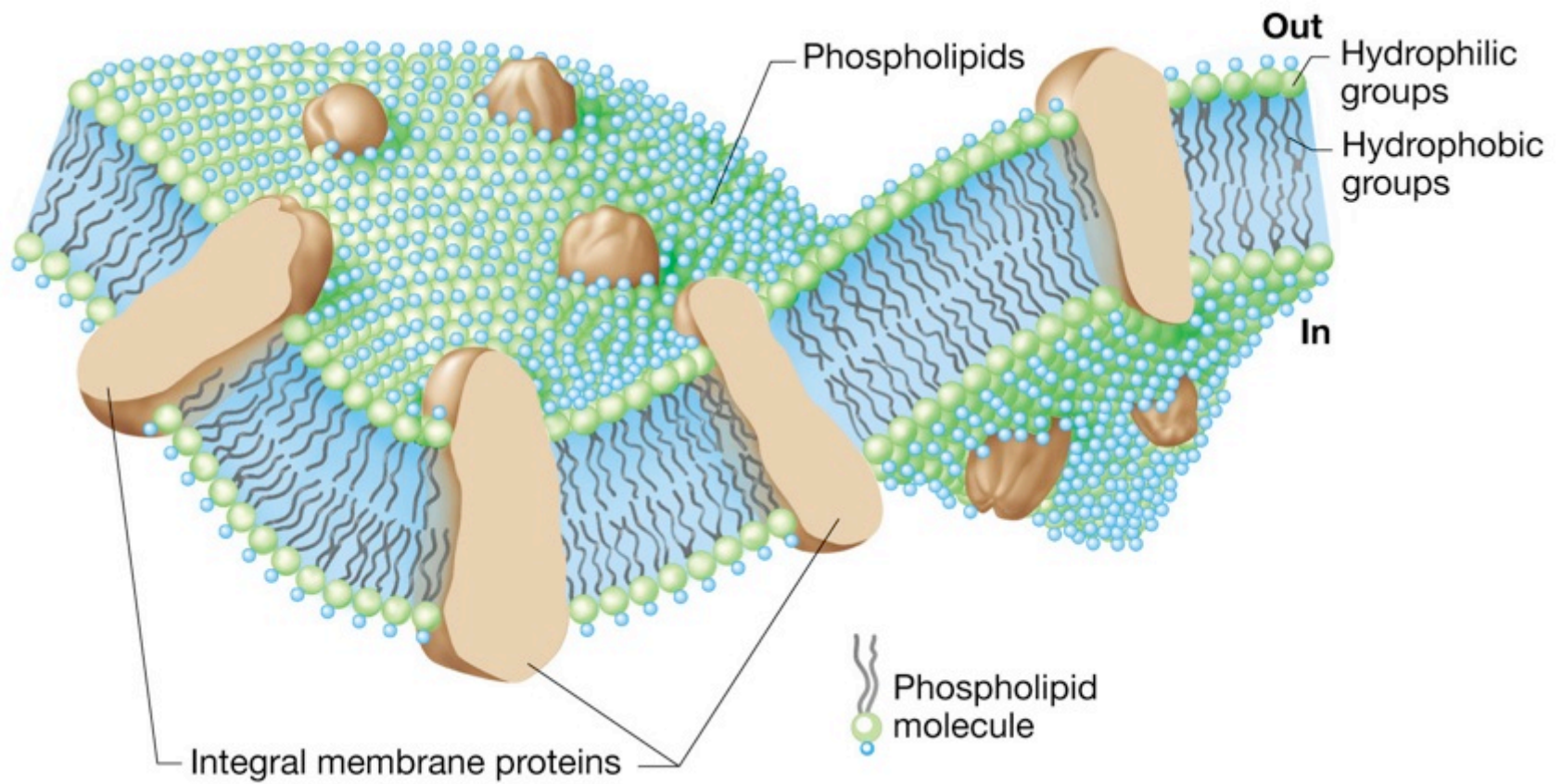
6-8nm



Proteínas de membrana

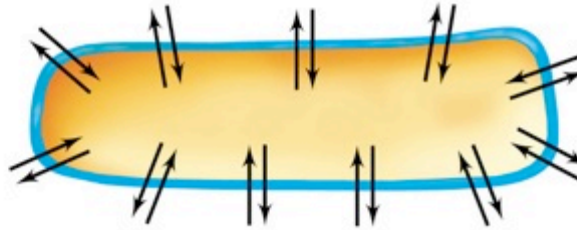
- Porciones hidrofílicas e hidrofóbicas





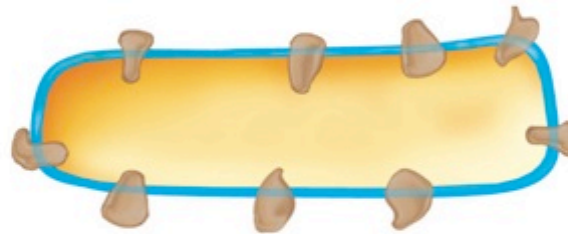
Funciones de la membrana

- Permear:



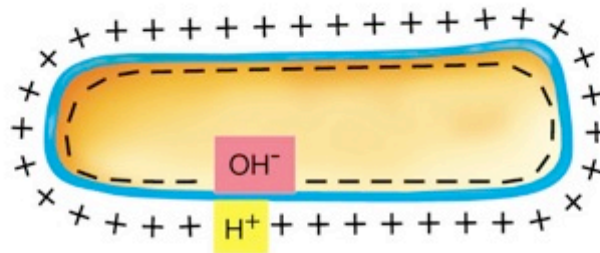
Permeability Barrier — Prevents leakage and functions as a gateway for transport of nutrients into and out of the cell

- Anclaje de proteínas:



Protein Anchor — Site of many proteins involved in transport, bioenergetics, and chemotaxis

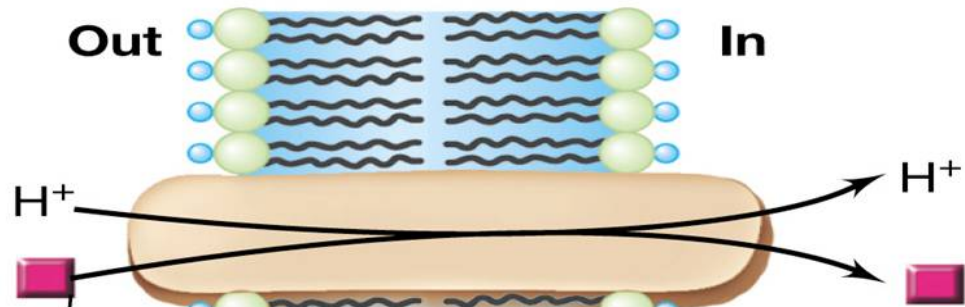
- Conservación de la energía



Energy Conservation — Site of generation and use of the proton motive force

Transporte a través de la membrana

Simple transport

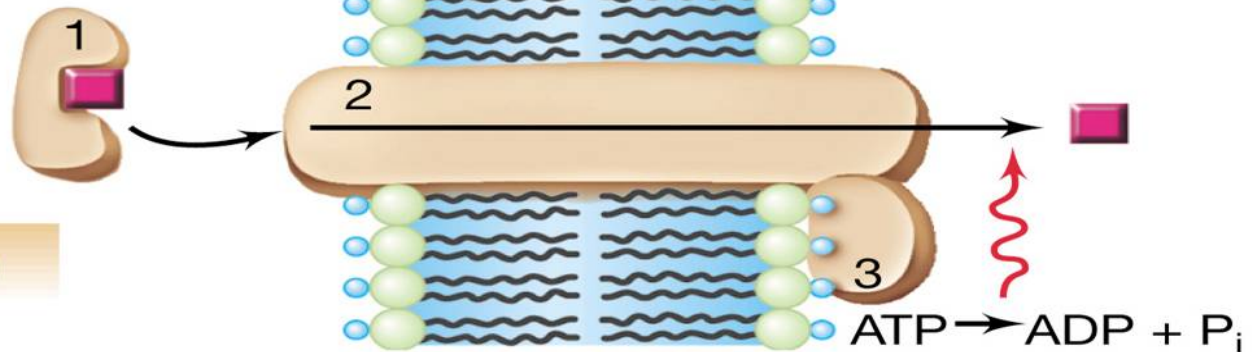


Transported substance

Group translocation

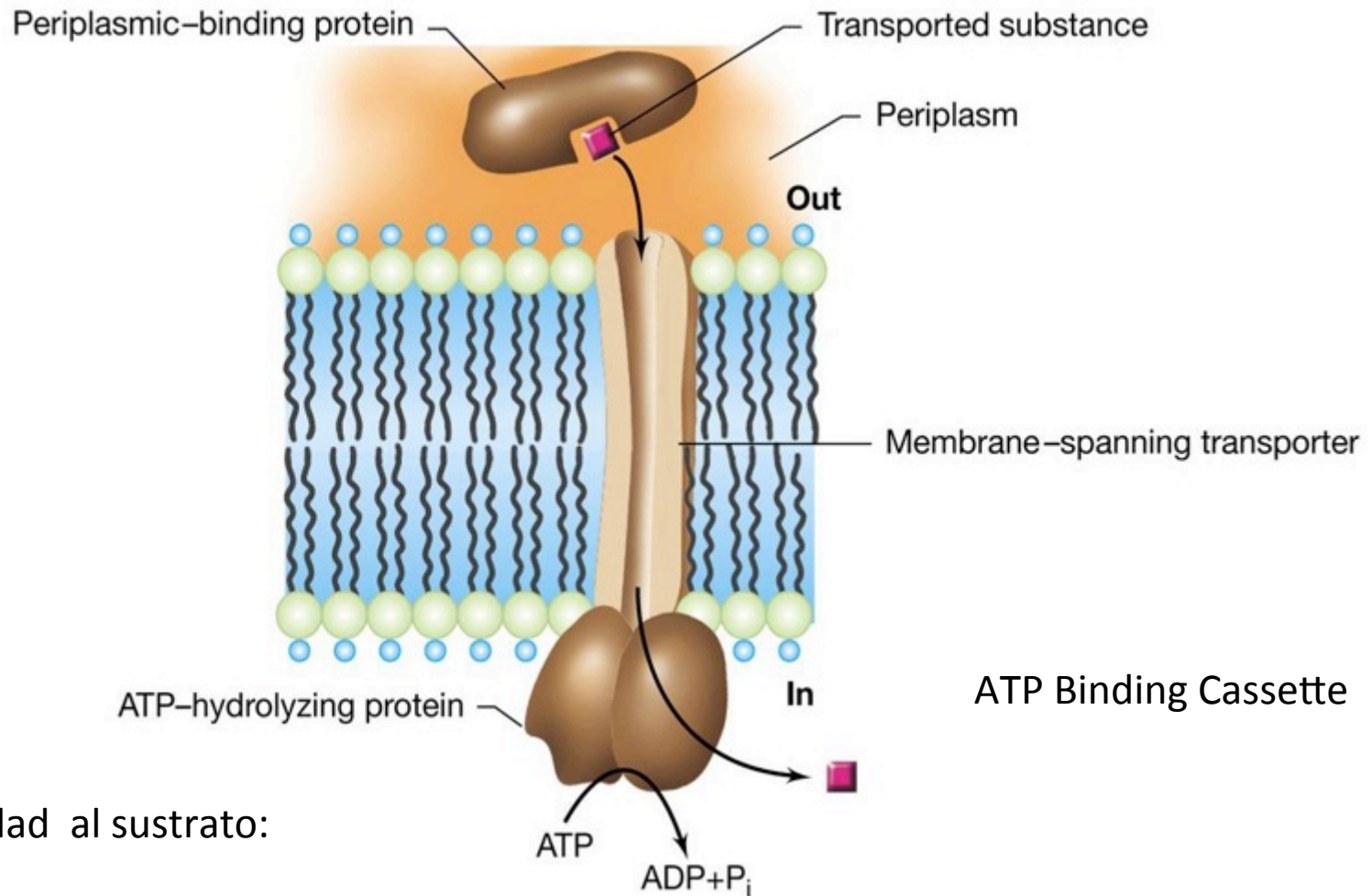


The ABC system



Sistema ABC

Proteínas periplásmicas de unión

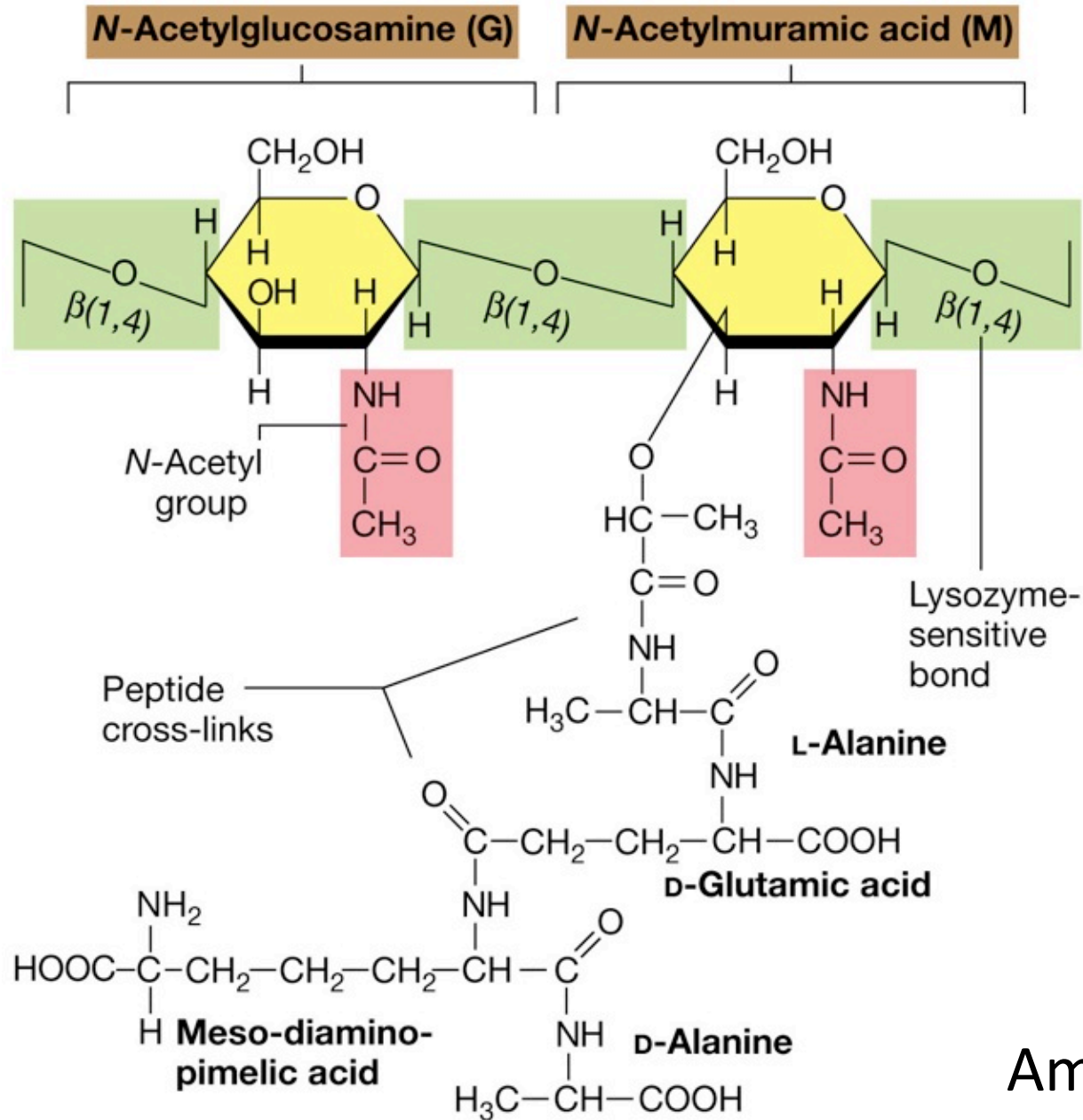


Alta afinidad al sustrato:
azúcares

PARED

- En el interior de la célula bacteriana hay una alta presión osmótica.
- La pared permite soportar esta presión y evitar la lisis
- Además le da a la célula la forma y la rigidez

Peptidoglicano

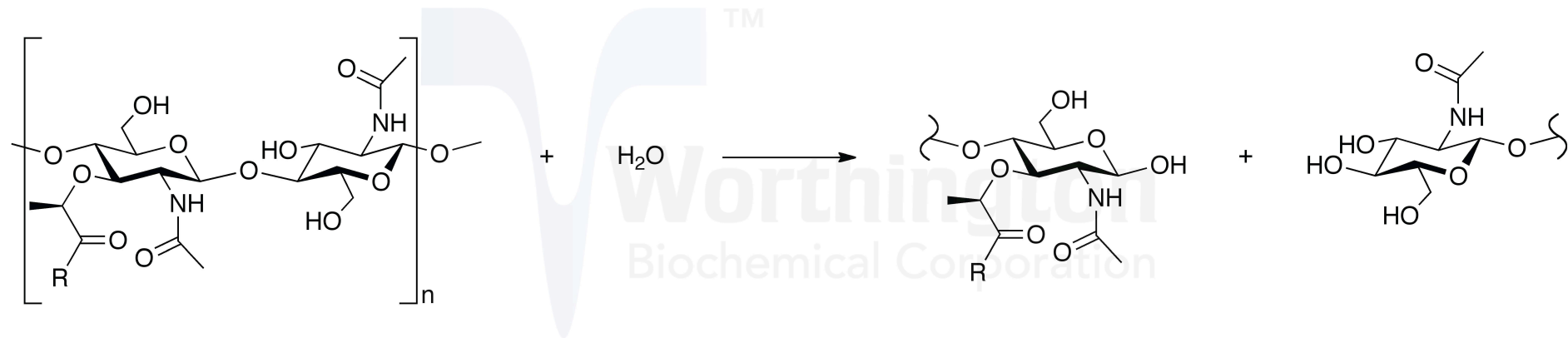


Aminoácidos

PARED

- Esto forma un esqueleto que es atravesado por peptidos pequeños
- Puede haber más de una capa de peptidoglicano

Lysozyme



R = peptide (usually 3-5 amino acid residues)

<http://www.worthington-biochem.com/ly/images/reaction.jpg>

Gram + y Gram-



- División de las bacterias con base en una coloración: GRAM
- Diferencias en la estructura de la pared
- Gram-: multicapa y compleja
- Gram+: Un solo componente pero más gruesa

Gram +



Peptidoglycan

Plasma membrane

Gram -



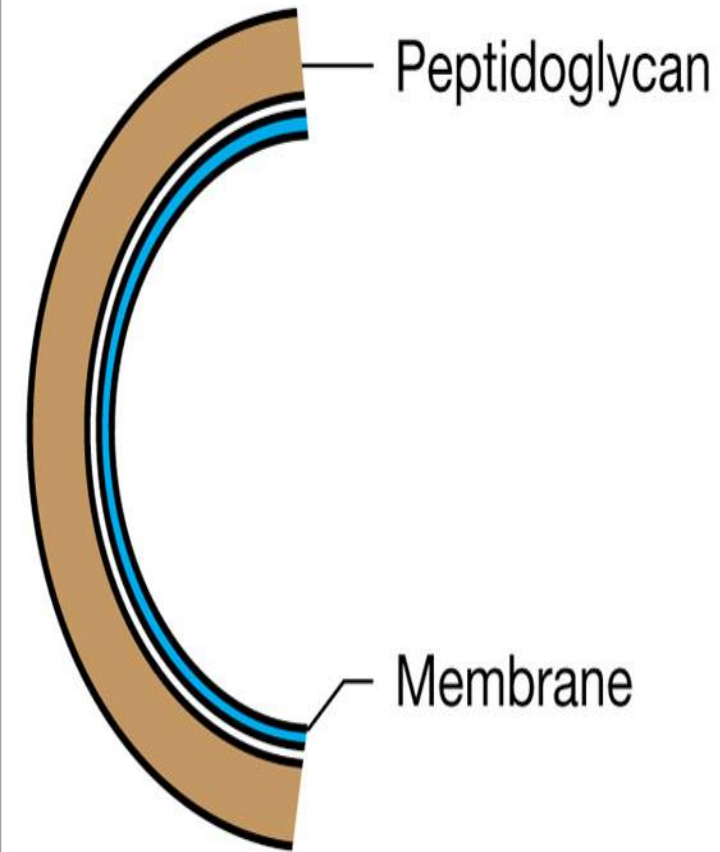
Outer membrane

Peptidoglycan

Periplasmic space

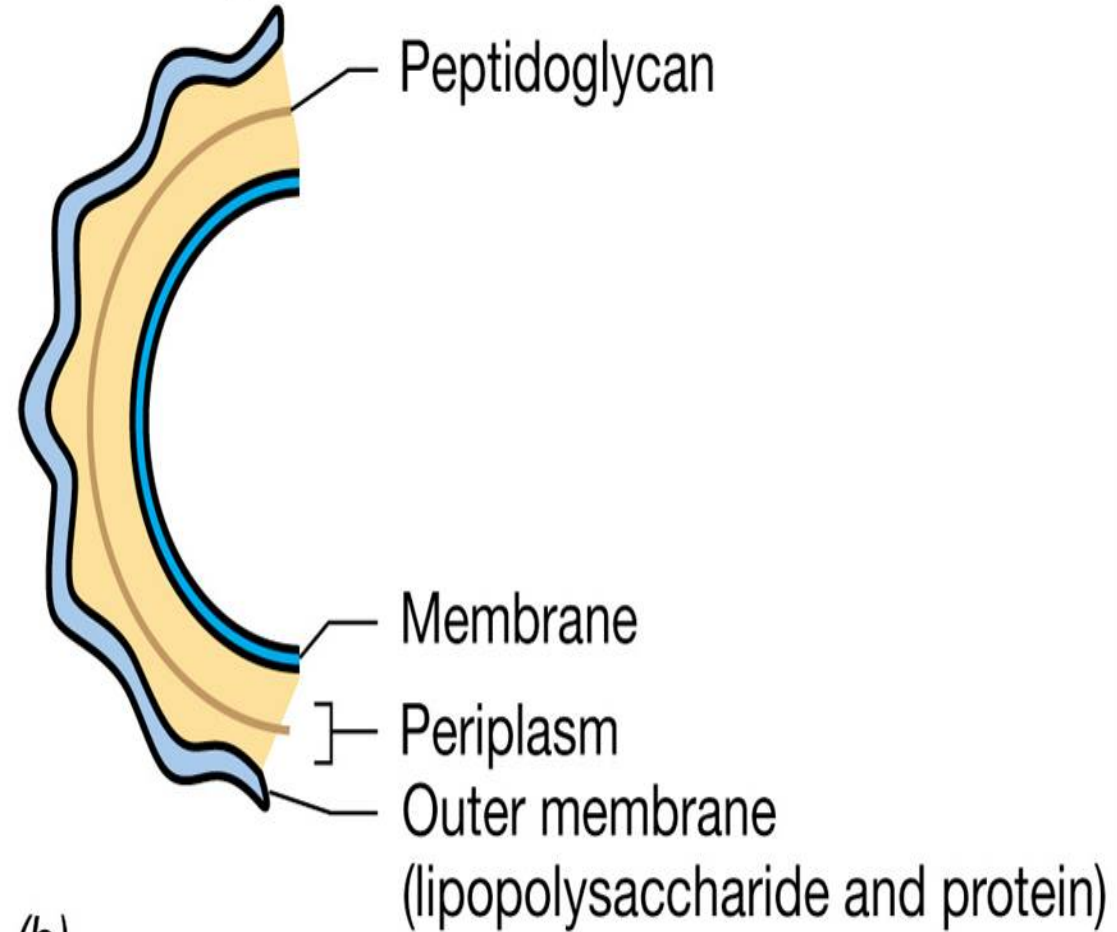
Plasma membrane

Gram-positive

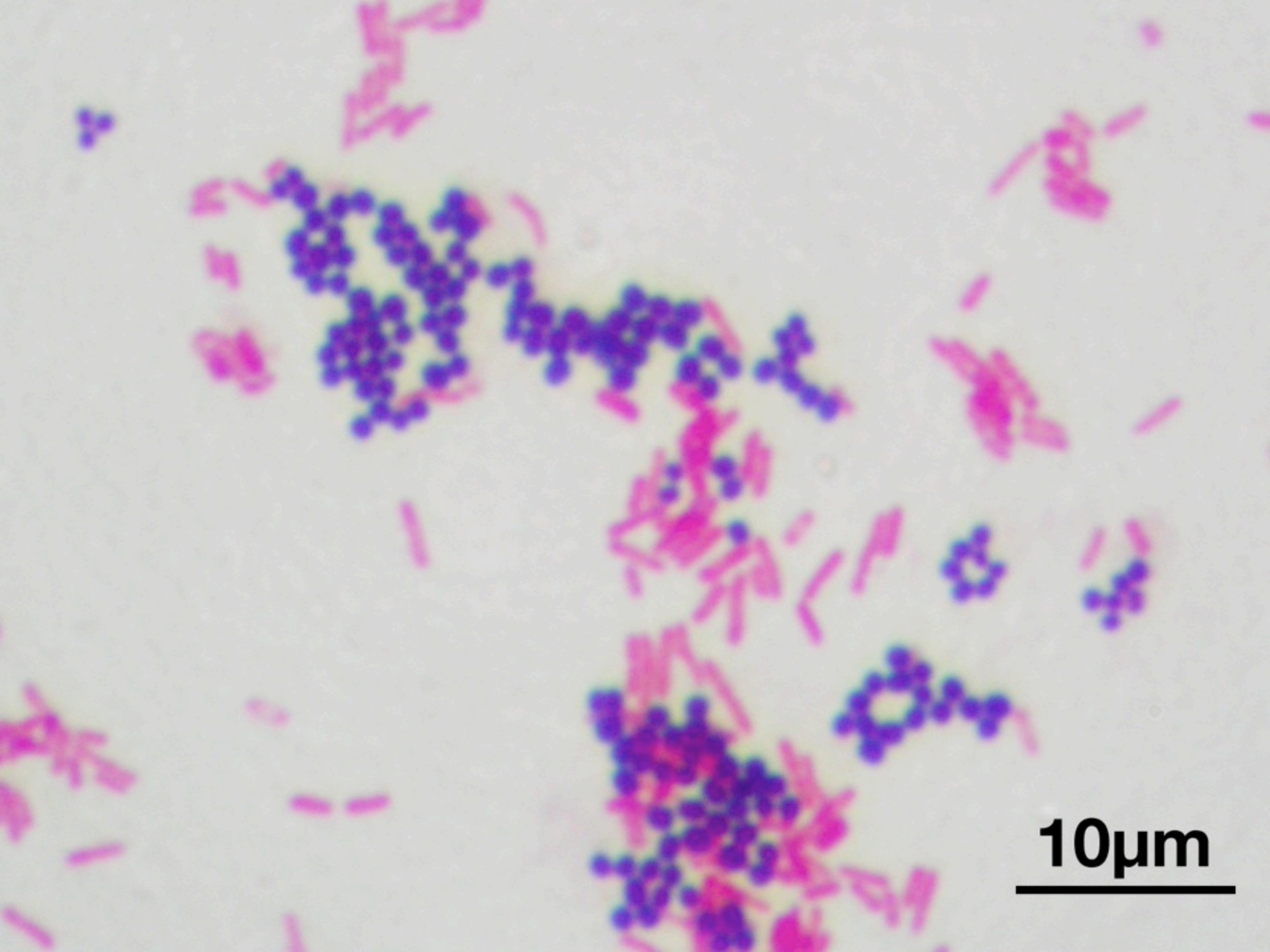


(a)

Gram-negative

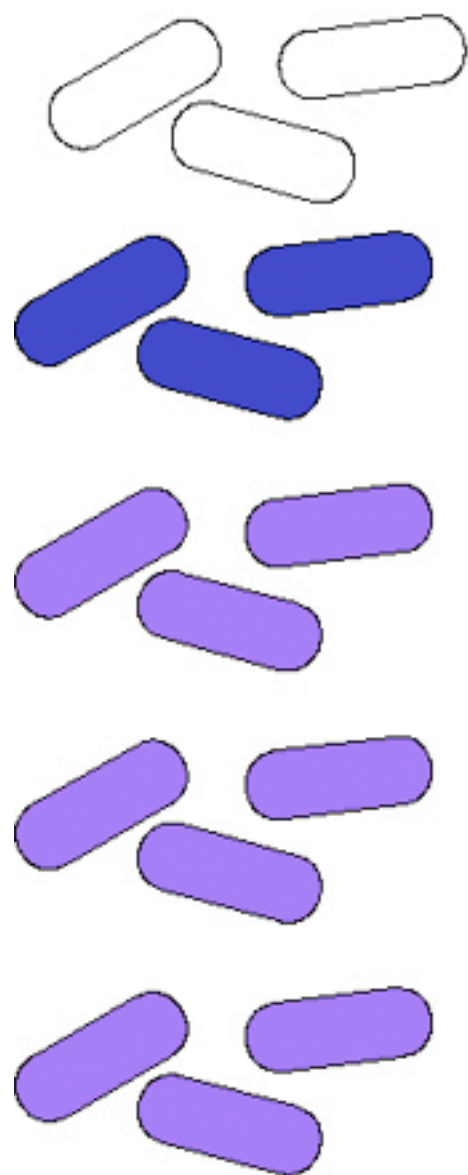


(b)

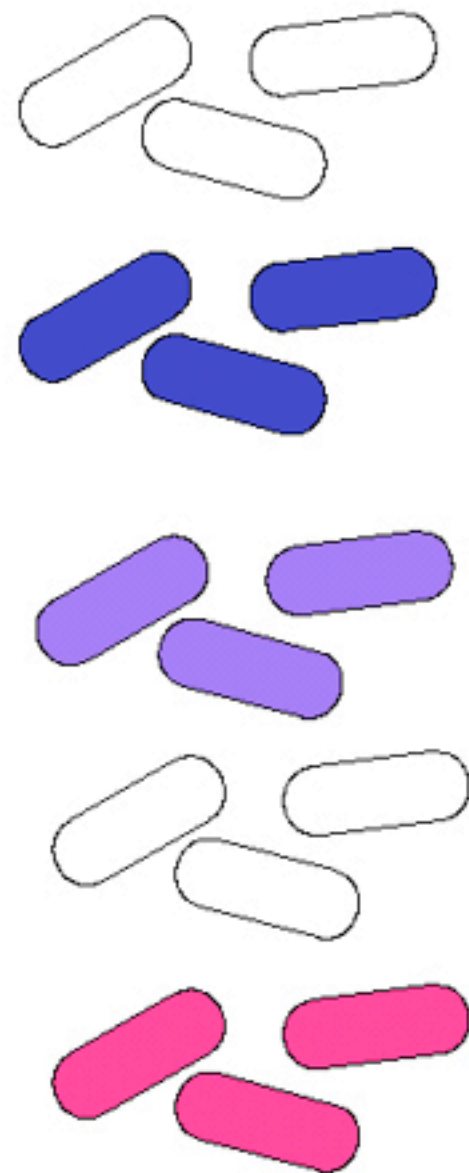


10μm

Gram Positive



Gram Negative



Fixation



Crystal violet



Iodine treatment



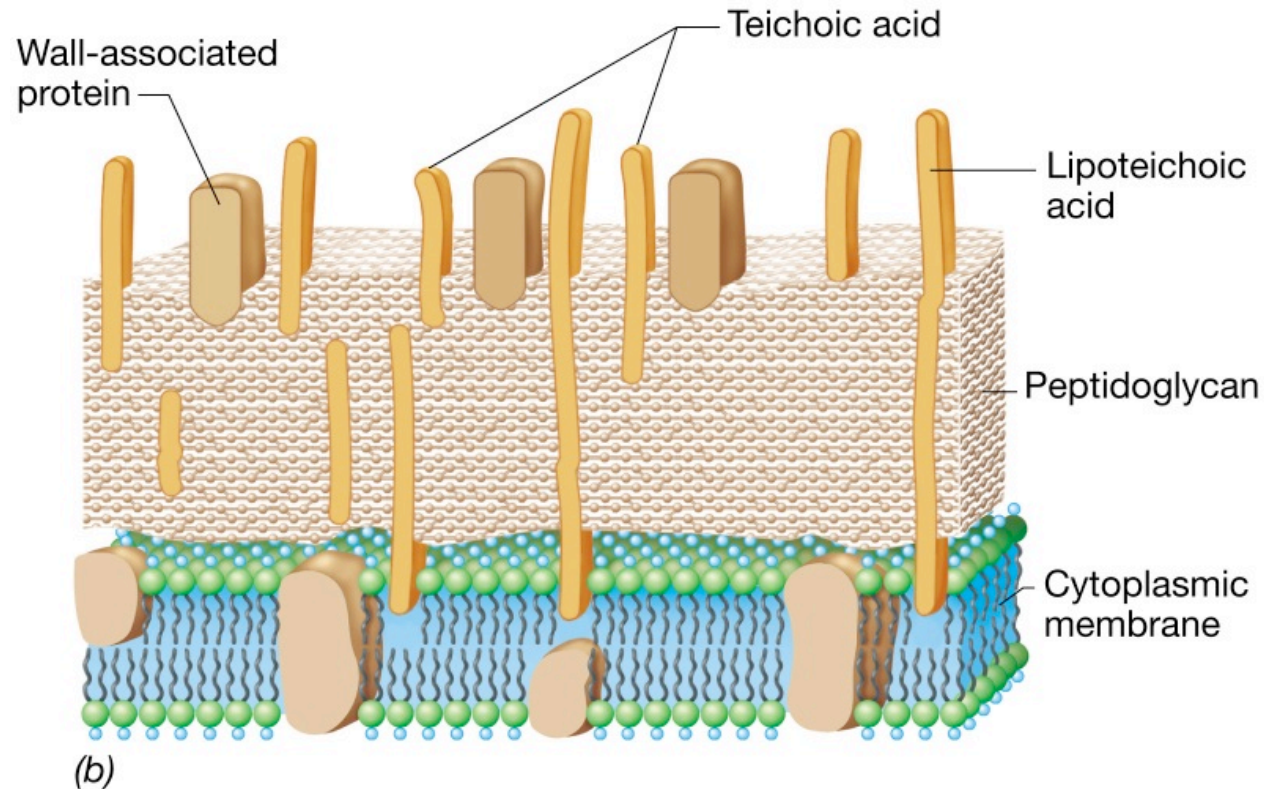
Decolorization



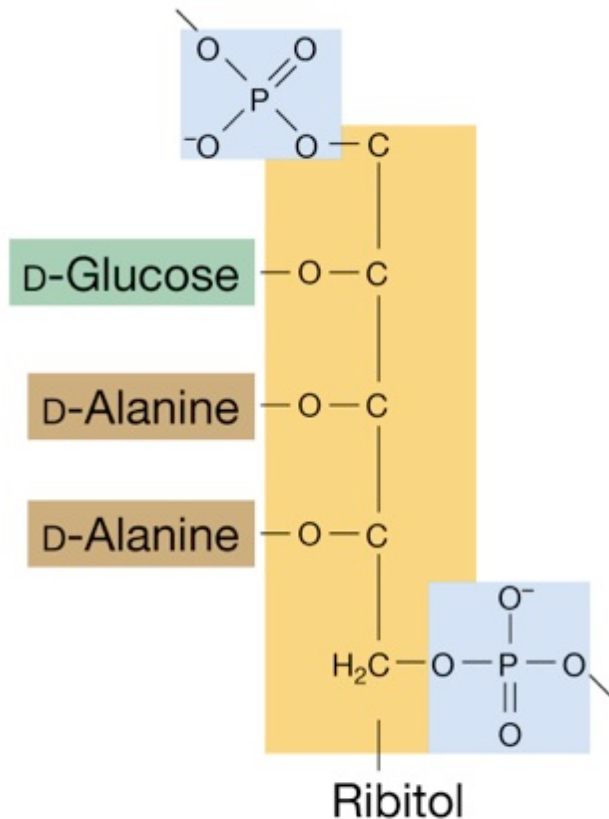
Counter stain
safranin

Gram positivas

- 90% peptidoglicano
- Varias capas: hasta 25
- Muchas tienen embebidos en la pared celular algunos ácidos: Ácidos teicoicos



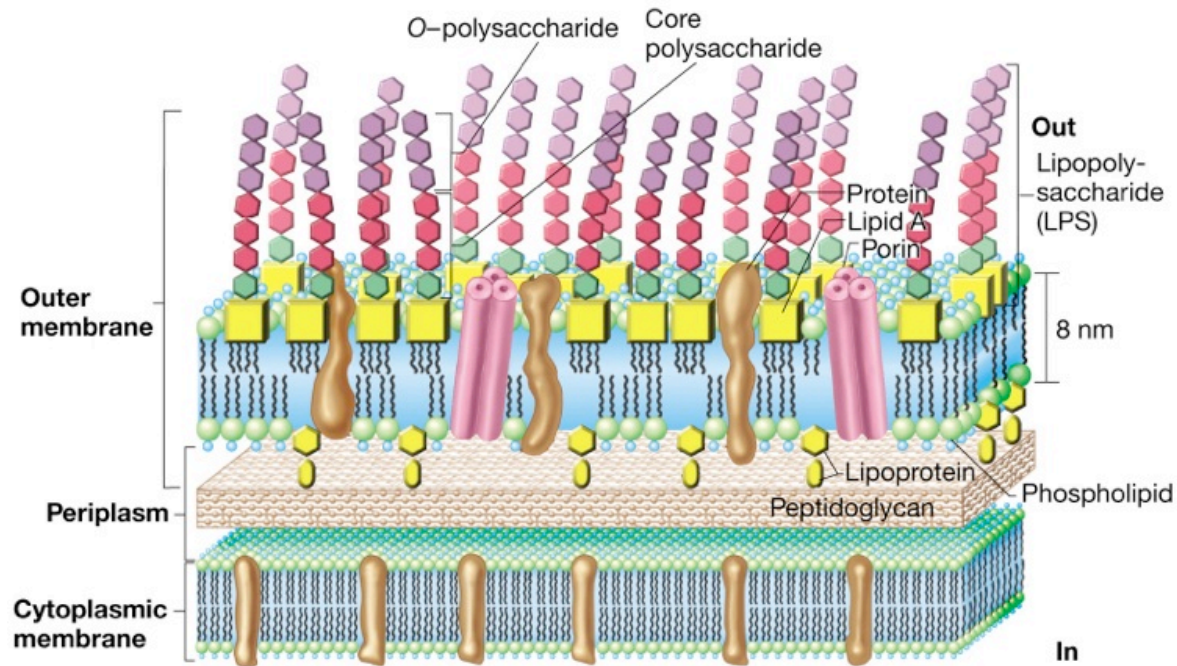
Ácidos teicoicos



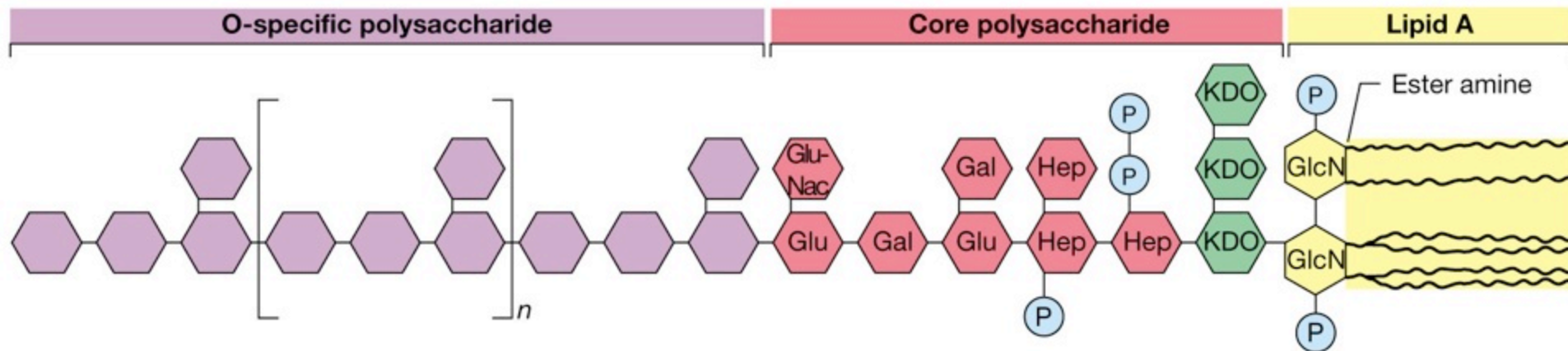
- Residuos de ribitol fosfato
- Polialcoholes conectados por enlaces fosfoester
- Tienen otros azúcares y D-alanina
- Están unidos covalentemente a los residuos de ac murámico

Gram negativa

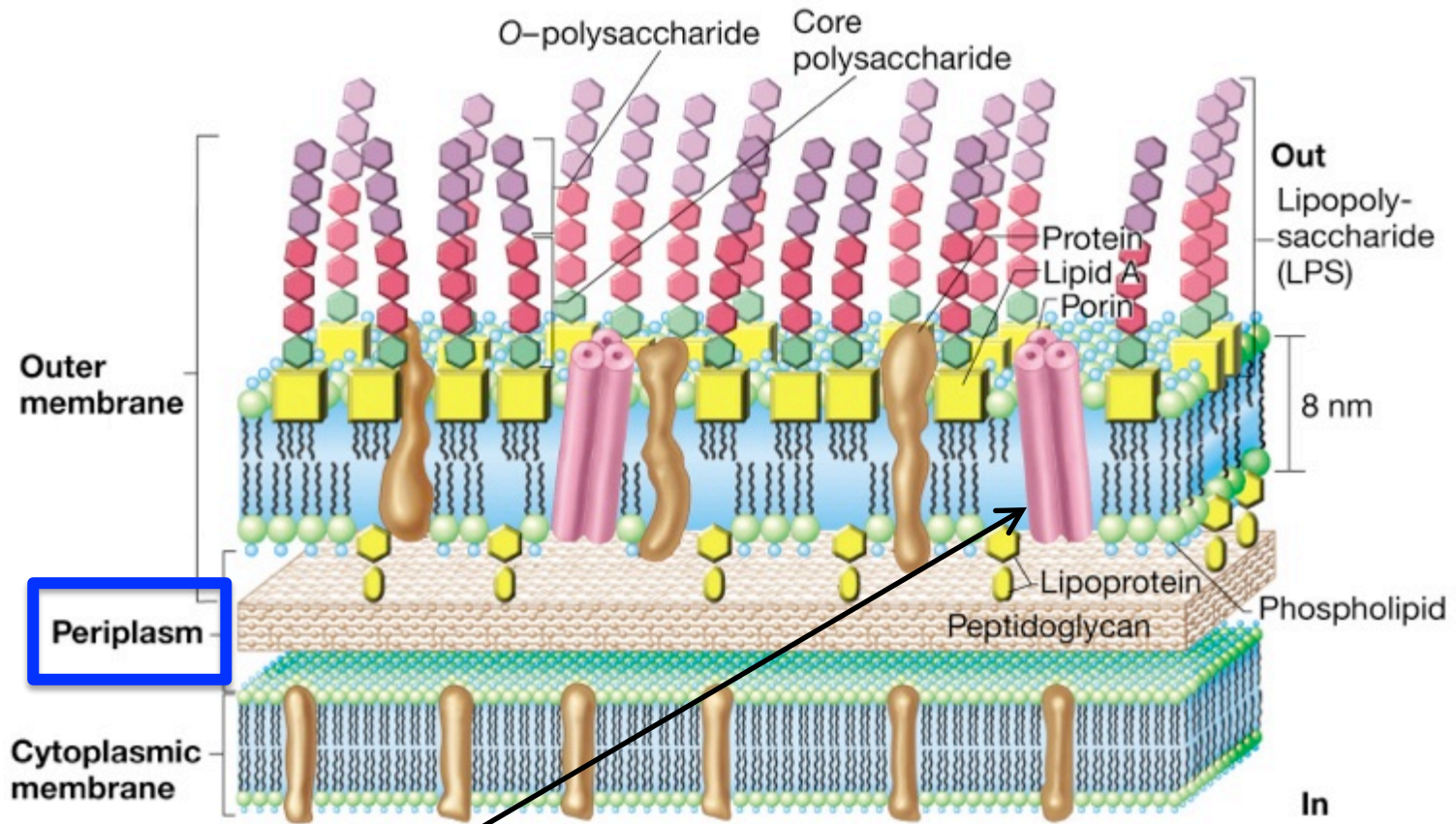
- 10% peptidoglicano
- Membrana externa
- Es una segunda bicapa lipídica
- No está constituida por fosfolípidos y proteínas
- Polisacáridos + Lípidos = Lipopolisacárido: LPS



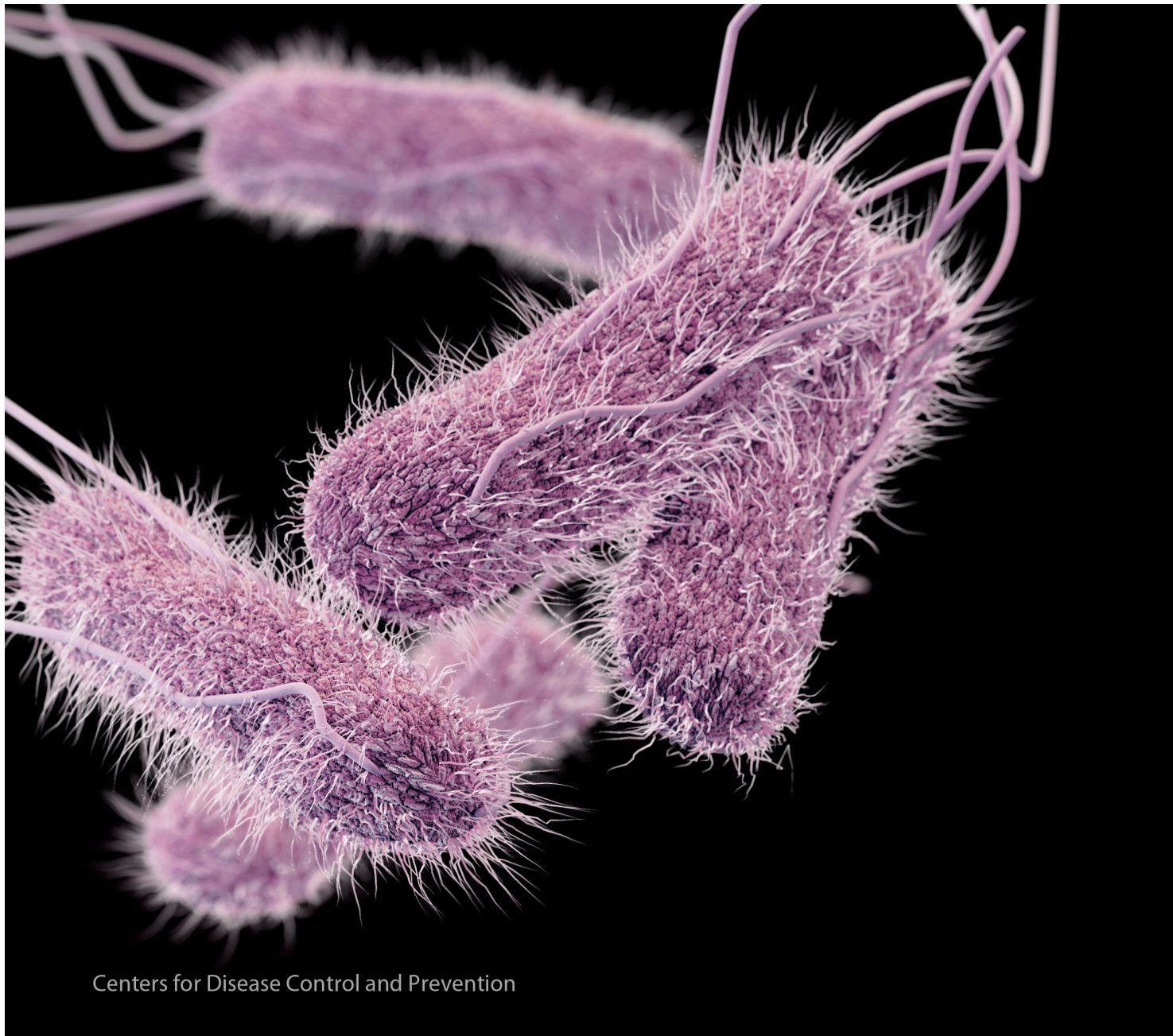
Lipopolisacárido (LPS)



Gram Negative

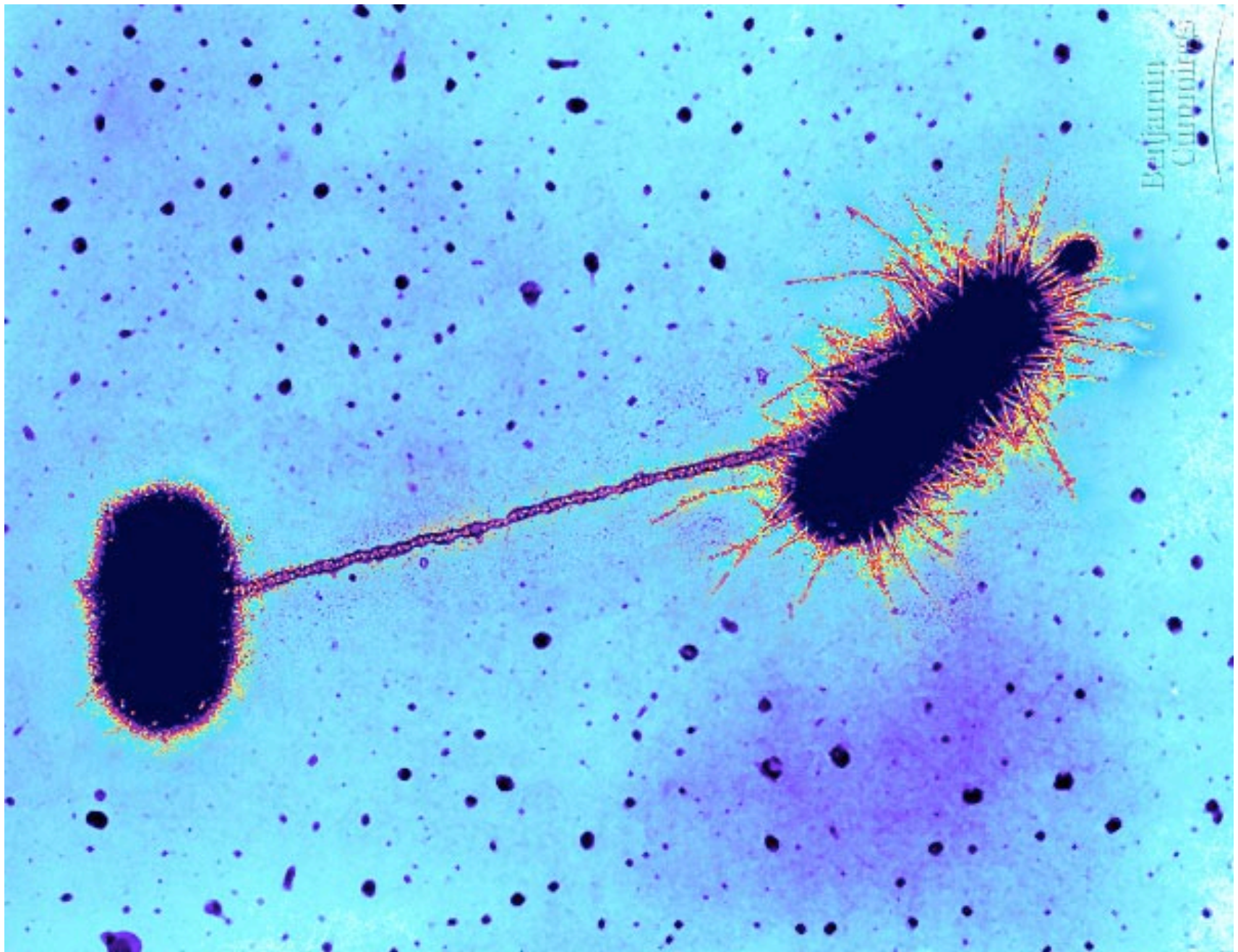


Porins - proteins that allow small molecules to cross membrane
-- specific and non-specific



Centers for Disease Control and Prevention

Salmonella typhi



<http://www.bio.utexas.edu/faculty/sjasper/bio212/microbial.html>

monotrichous



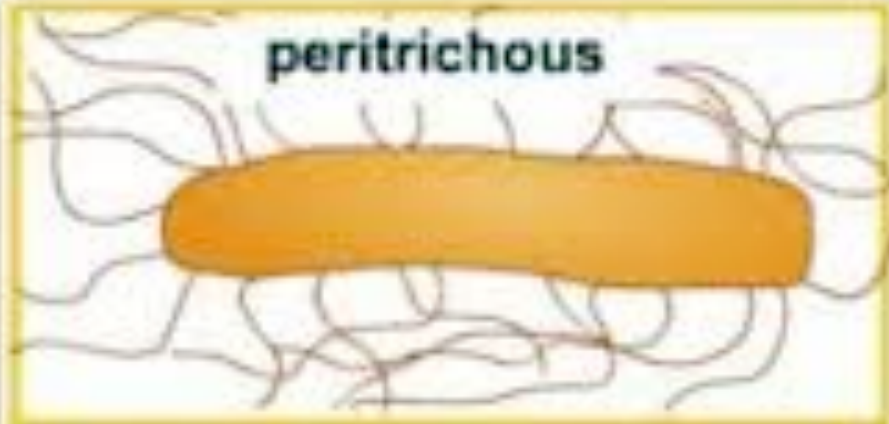
amphitrichous



lophotrichous



peritrichous



TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LOS MICROORGANISMOS

TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE LOS MICROORGANISMOS

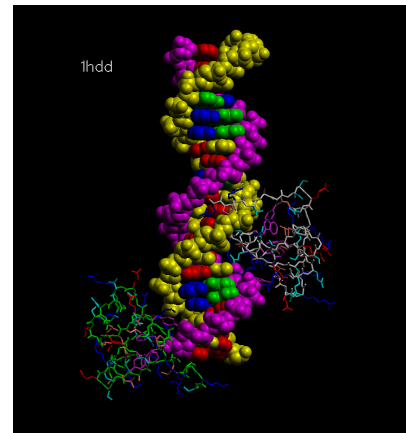
Koch y sus colaboradores desarrollaron técnicas y materiales de **cultivo** (medios sólidos)



Enciclopedia Encarta, Photo Researchers, Inc./John Durham

www.lifescienceandsociety.missouri.edu Enciclopedia Microsoft Encarta

Microscopía

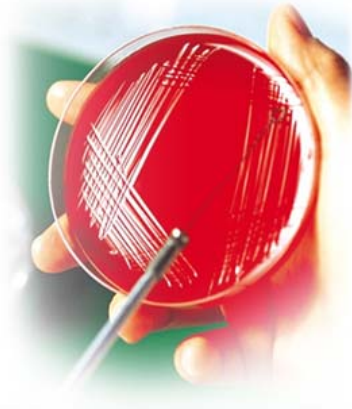


Técnicas Moleculares

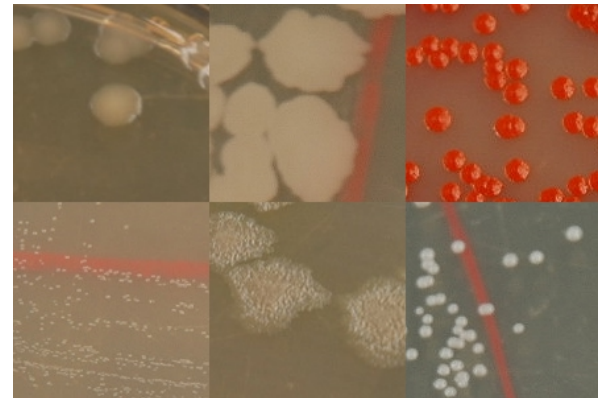
http://www.imb-jena.de/image_library/DNA/DNA_protein_complexes/1hdd_pdt004/1hdd_setor_4.gif

TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DE MICROORGANISMOS

Koch y sus colaboradores desarrollaron técnicas y materiales de **cultivo**
(medios sólidos)



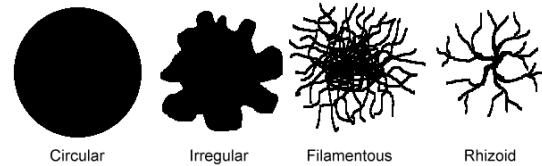
Enciclopedia Encarta, Photo Researchers, Inc./John Durham



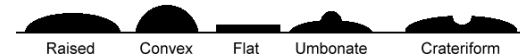
http://inst.bact.wisc.edu/inst/index.php?module=book&func=displayarticle&art_id=119



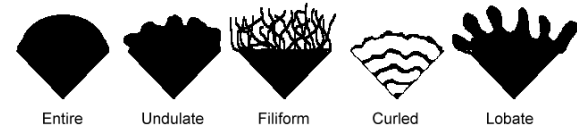
Form



Elevation



Margin



http://www.microbeworld.org/index.php?option=com_jlibrary&view=article&id=1182

Imágenes tomadas de www.lifescienceandsociety.missouri.edu
Enciclopedia Microsoft Encarta

http://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/project_ideas/MicroBio_Interpreting_Plates.shtml

Requerimientos

- Nutrientes
- Energía
- Oxígeno (o ausencia)
- Temperatura óptima
- pH óptimo

Nutrición

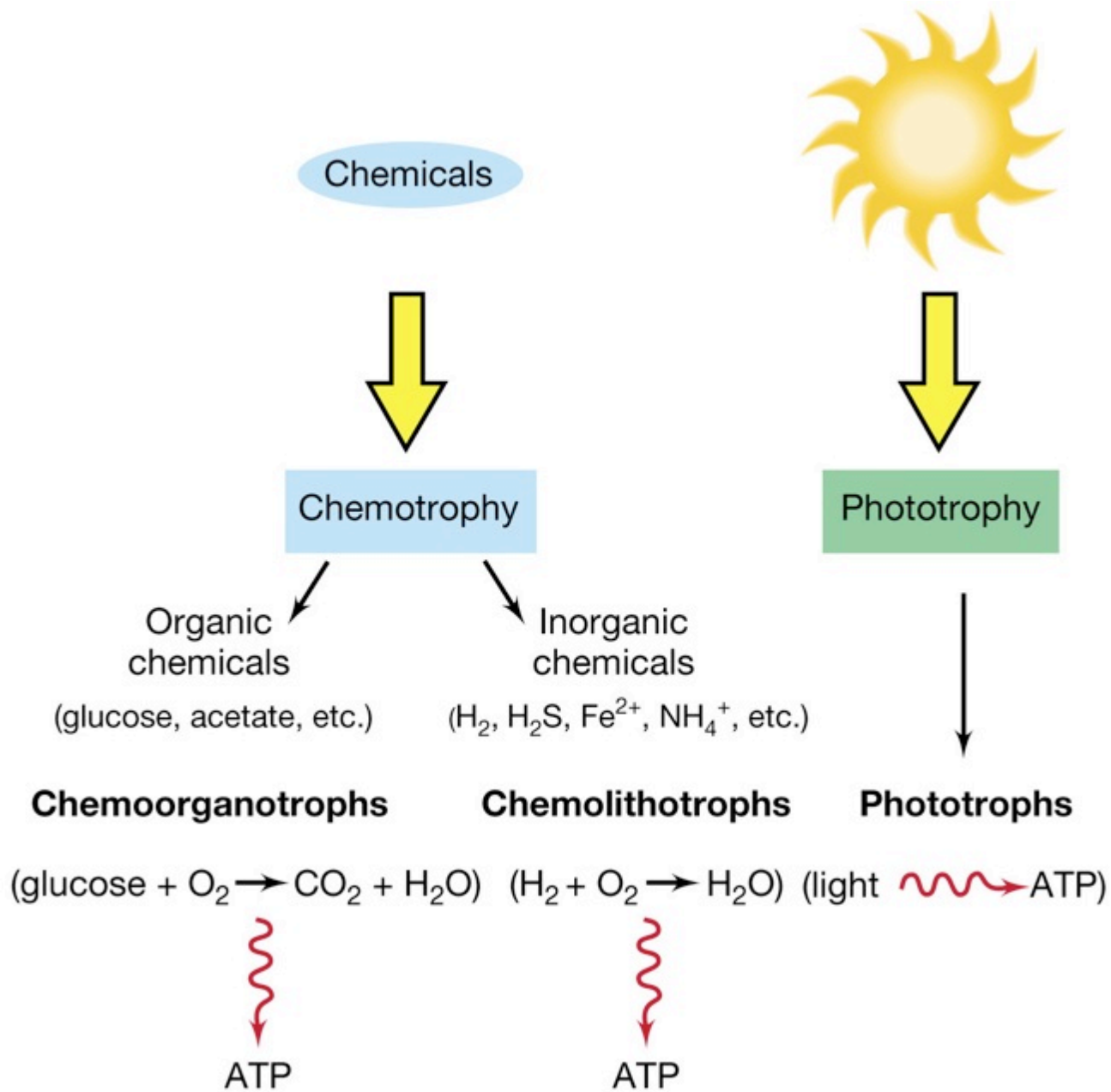
- Autótrofos: Utiliza el dióxido de carbono como única o principal fuente de C.
- Heterótrofos: su fuente de carbono es orgánica (usualmente lo toman a partir de otros organismos)

Requerimientos

- Nitrógeno
 - Síntesis de aminoácidos
 - Purinas
 - Pirimidinas
- Obtención
 - Moléculas orgánicas
 - Reducción del nitrato
 - Amonio
 - Fijación del nitrógeno:
Bacterias fijadoras

Requerimientos

- **Fósforo**
 - Ácidos nucleicos
 - Fosfolípidos
 - Nucleótidos
- Obtención
 - Fósforo inorgánico
- **Sulfuro**
 - Síntesis de ciertos aminoácidos y otras moléculas
- Obtención
 - Asimilación o reducción de sulfato



Medios de cultivo

- Crecimiento de los microorganismos
- Líquidos o sólidos
 - Sólidos (agar)
- Estudio de los microorganismos

Medios sintéticos o definidos

- Composición y concentración conocida
- Requerimientos especiales

BG-11 Medium for Cyanobacteria	Amount (g/liter)
NaNO ₃	1.5
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0.04
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.075
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.036
Citric acid	0.006
Ferric ammonium citrate	0.006
EDTA (Na ₂ Mg salt)	0.001
Na ₂ CO ₃	0.02
Trace metal solution ^a	1.0 ml/liter
Final pH 7.4	

Medium for <i>Escherichia coli</i>	Amount (g/liter)
Glucose	1.0
Na ₂ HPO ₄	16.4
KH ₂ PO ₄	1.5
(NH ₄) ₂ SO ₄	2.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	200.0 mg
CaCl ₂	10.0 mg
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 mg
Final pH 6.8–7.0	

Sources: Data from Rippka, et al. *Journal of General Microbiology*, 111:1–61, 1979; and S.S. Cohen, and R. Arbogast, *Journal of Experimental Medicine*, 91:619, 1950.

^aThe trace metal solution contains H₃BO₃, MnCl₂·4H₂O, ZnSO₄·7H₂O, Na₂Mo₄·2H₂O, CuSO₄·5H₂O, and Co(NO₃)₂·6H₂O.

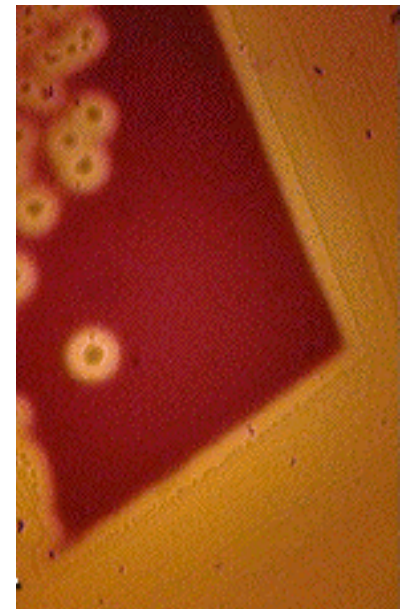
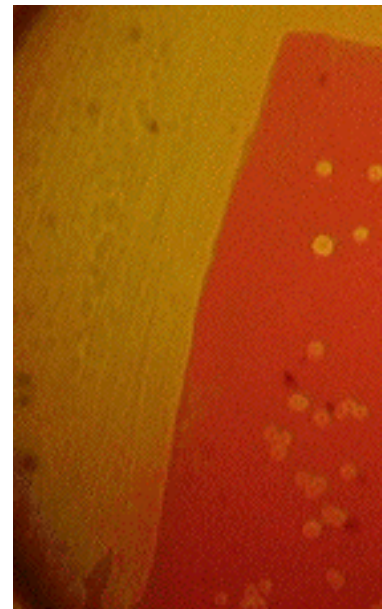
Medios complejos o indefinidos

- Contiene algunos ingredientes de composición y concentración desconocida
- Contienen peptonas (proteínas hidrolizadas)

Nutrient Broth	Amount (g/liter)
Peptone (gelatin hydrolysate)	5
Beef extract	3
Tryptic Soy Broth	
Tryptone (pancreatic digest of casein)	17
Peptone (soybean digest)	3
Glucose	2.5
Sodium chloride	5
Dipotassium phosphate	2.5
MacConkey Agar	
Pancreatic digest of gelatin	17.0
Pancreatic digest of casein	1.5
Peptic digest of animal tissue	1.5
Lactose	10.0
Bile salts	1.5
Sodium chloride	5.0
Neutral red	0.03
Crystal violet	0.001
Agar	13.5

Medios enriquecidos

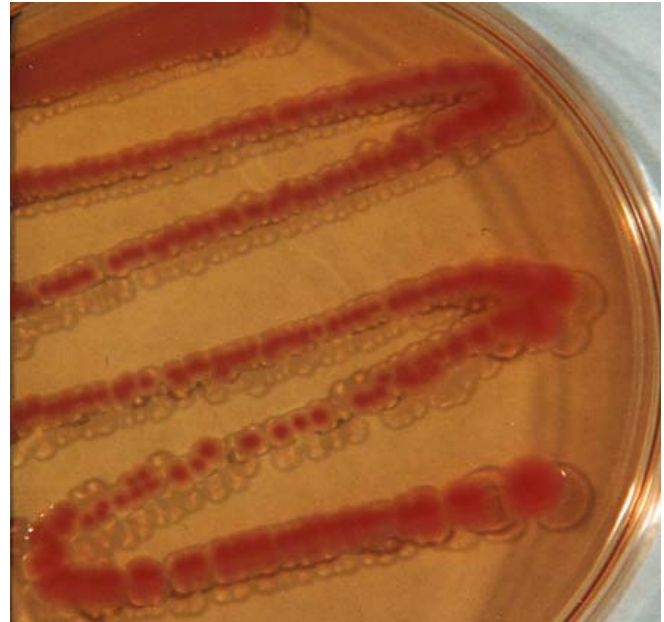
- Suplementación con nutrientes o cofactores extras
- Crecimiento de un microorganismo “fastidioso”
- Ej. Agar sangre.



Staphylococcus aureus *Streptococcus pneumoniae*

Medios selectivos

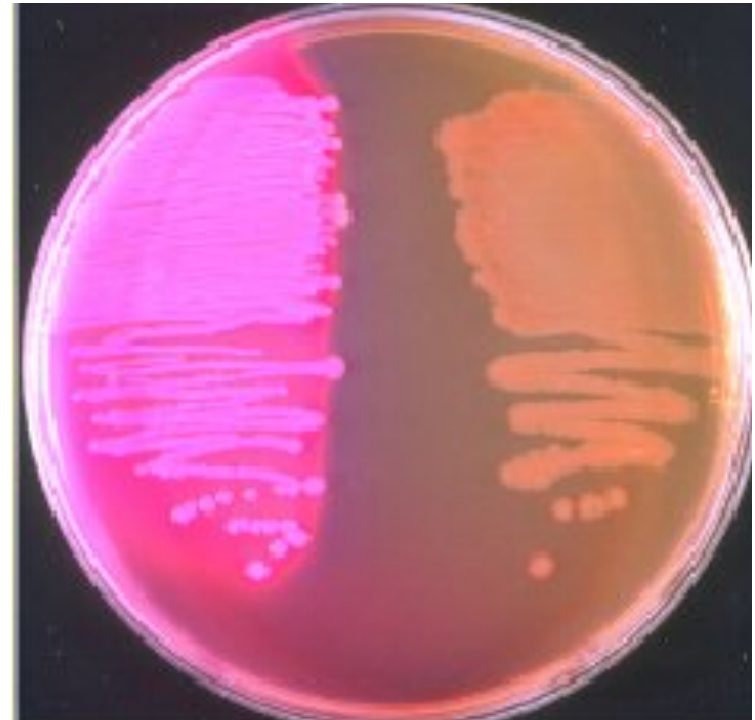
- Favorecen el crecimiento de algunos microorganismos e inhibe la presencia de otros
- Adición de a/b ó químicos, coloraciones



Enterobacter aerogenes sobre Agar Mac Conkey

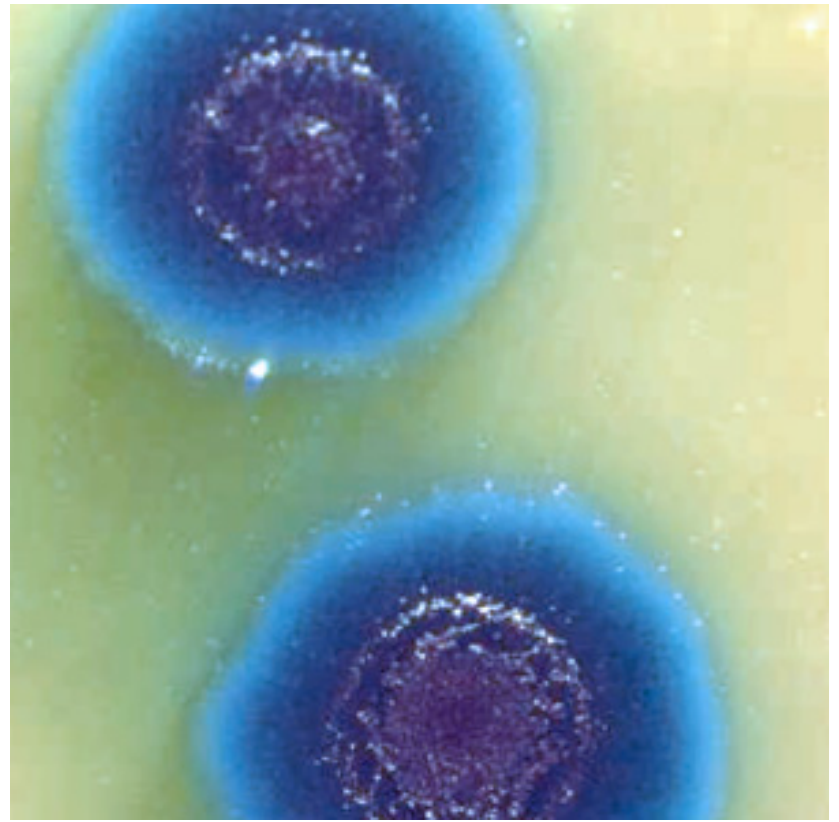
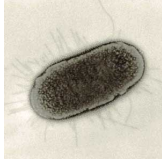
Medios diferenciales

- Diferencian grupos de microorganismos, basados en sus características biológicas
- Agar sangre
 - Bacterias hemolíticas versus no hemolíticas



Fermentadoras de lactosa Vs no fermentadoras) Agar Mac Conkey

<http://www.chem.ox.ac.uk/vrchemistry/LivingCells/pictures/ecoli.jpg>



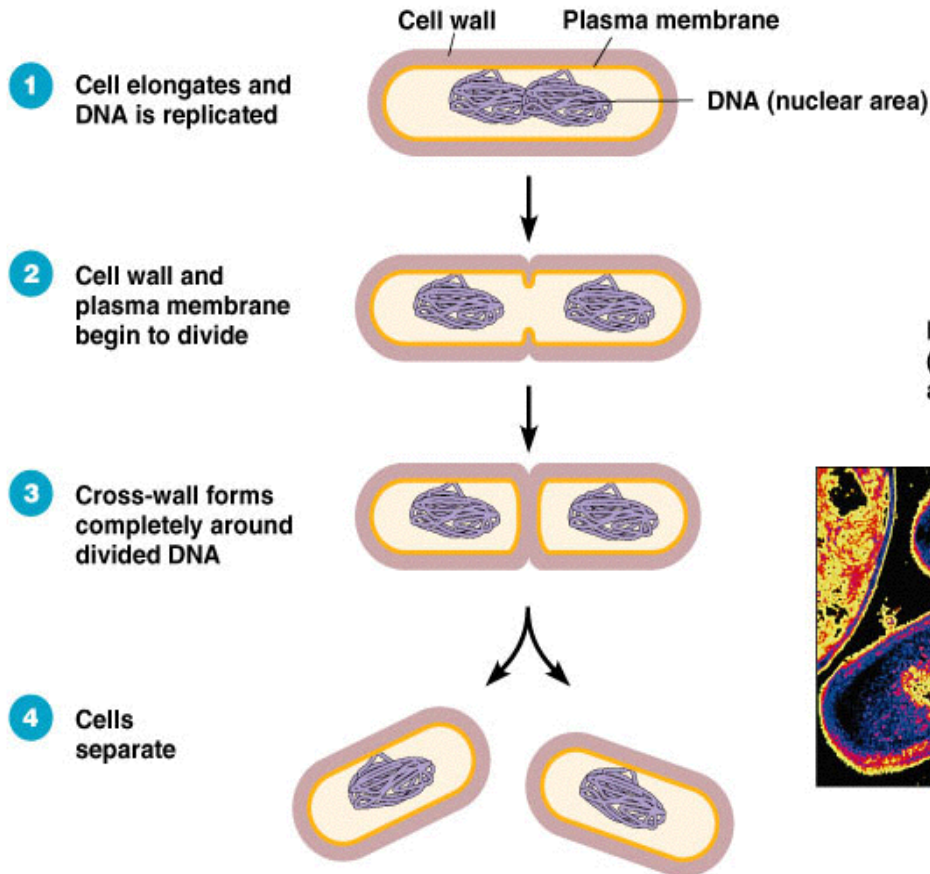
<http://www.cosmosmagazine.com/files/imagecache/news/files/20070629.jpg>

Crecimiento microbiano

Cómo crecen los microorganismos?

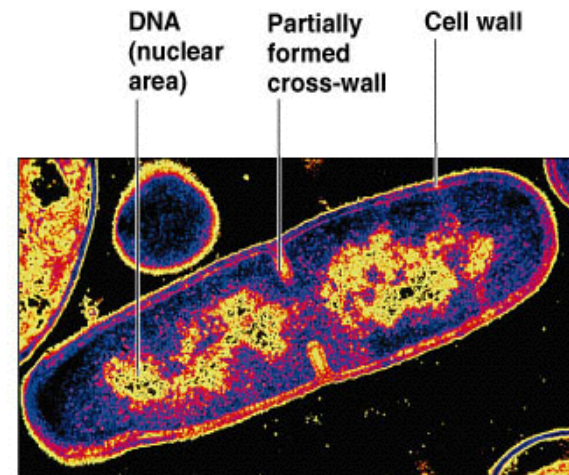
- Aumento en tamaño?
- Aumento en número de individuos?
- Los dos!
- Las bacterias se dividen por FISION BINARIA

División celular



(a) A diagram of the sequence of cell division.

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



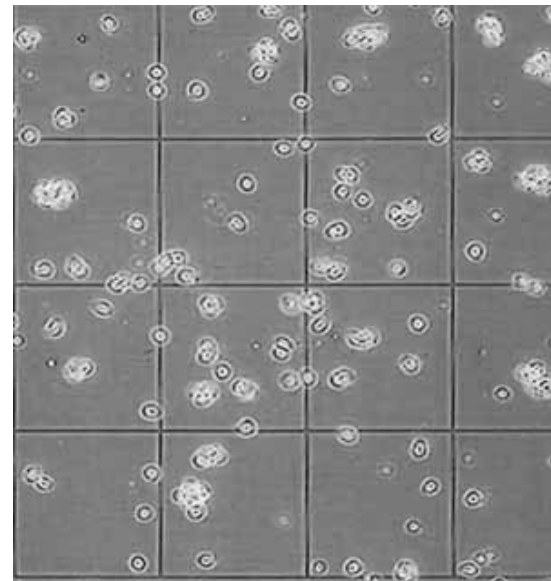
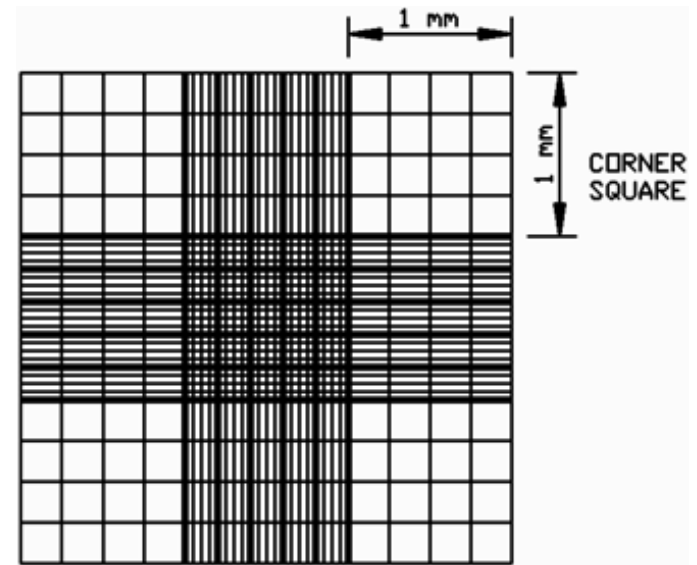
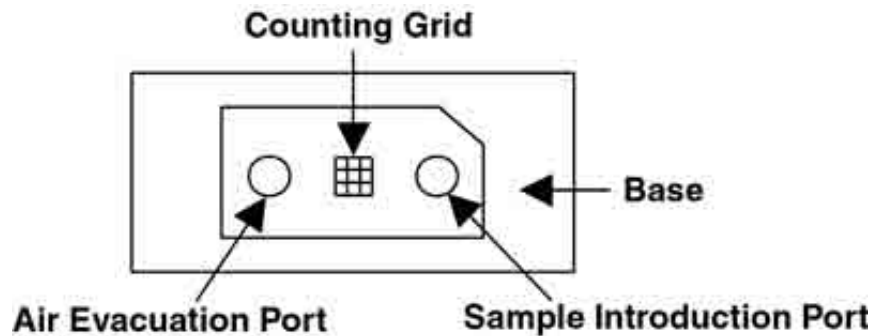
(b) A thin section of a cell of *Bacillus licheniformis* starting to divide.

Medidas del crecimiento microbiano

- **Conteo de número de células**
 - Método de conteo directo
Microscopio, citómetro de flujo
 - Células viables
Conteo de ufc/ml o ufc/g
NMP

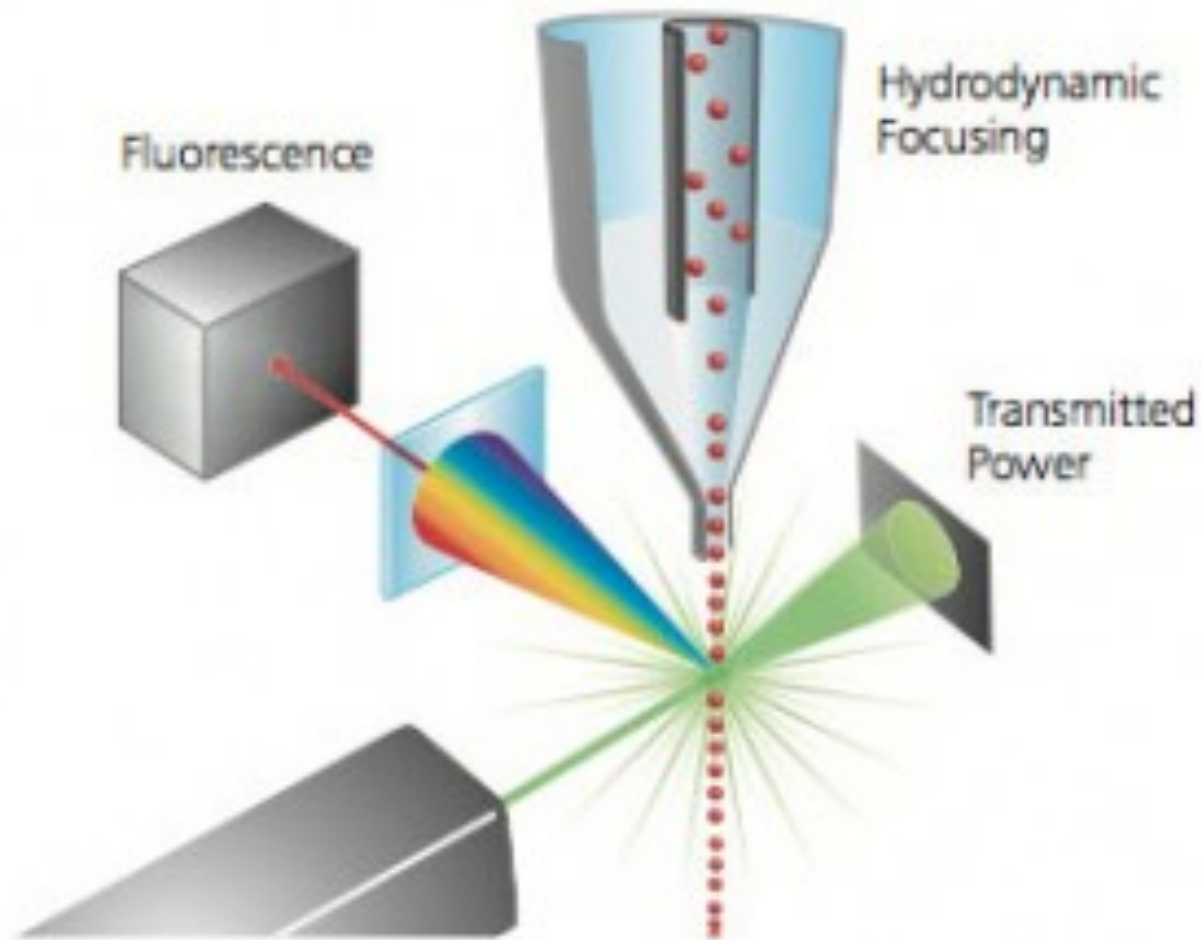
Conteo de número de células

Conteo directo de células: Microscopio



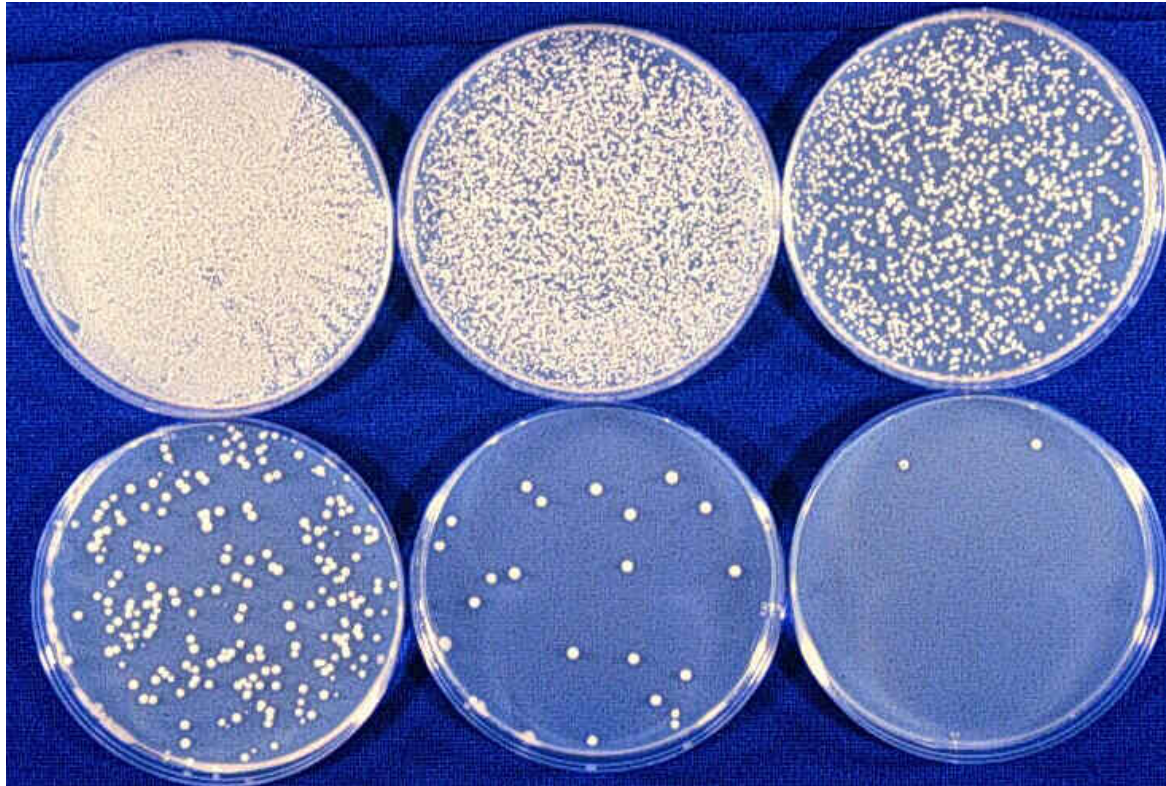
Conteo de número de células

Conteo directo de células: Citometría de flujo



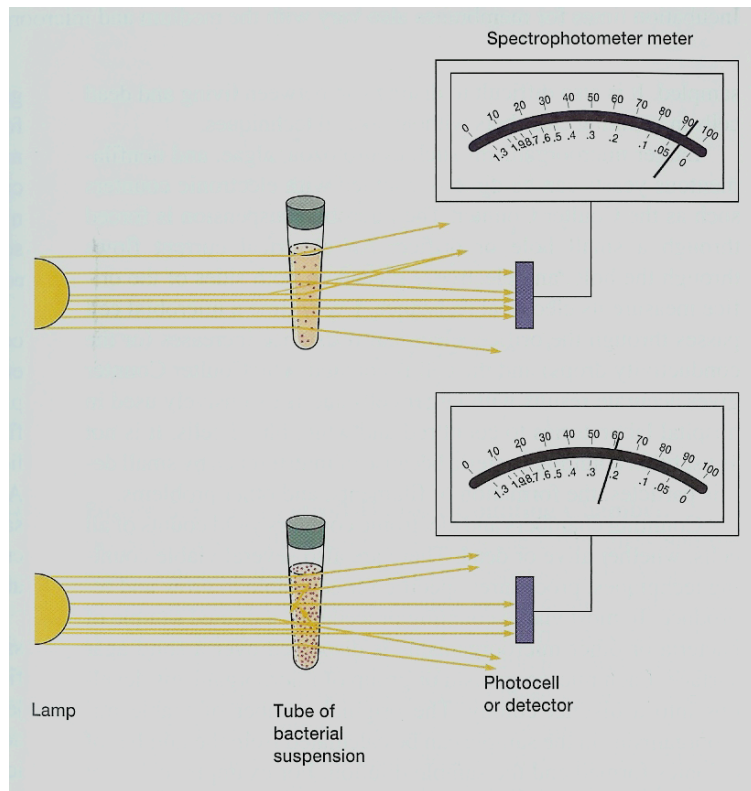
Conteo de número de células

Conteo de células viables



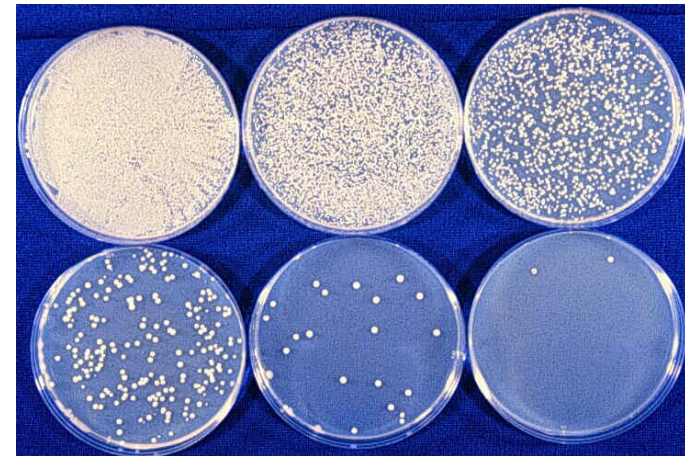
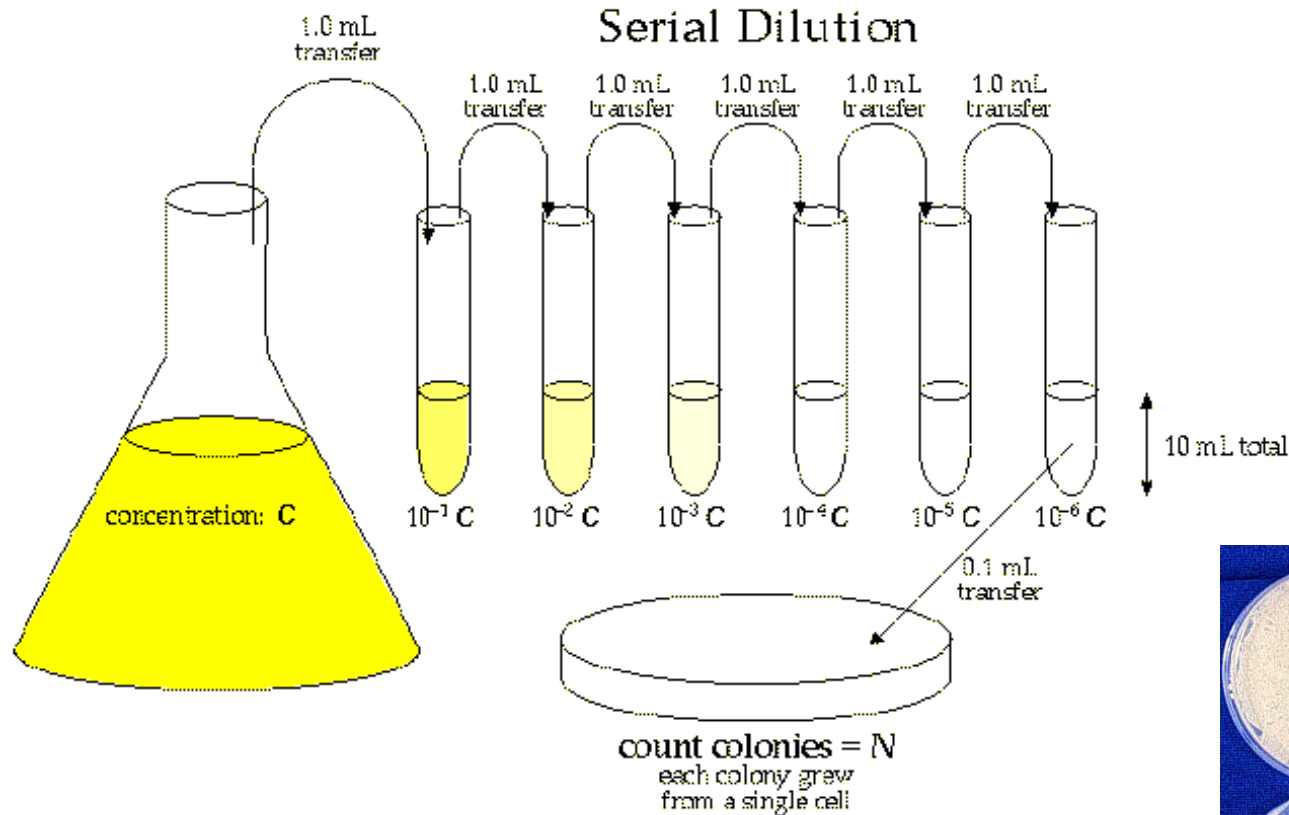
- **Conteo de masa celular**

Determinar el número aproximado de uorg por medio de un parámetro que permita acercarse a la cantidad.



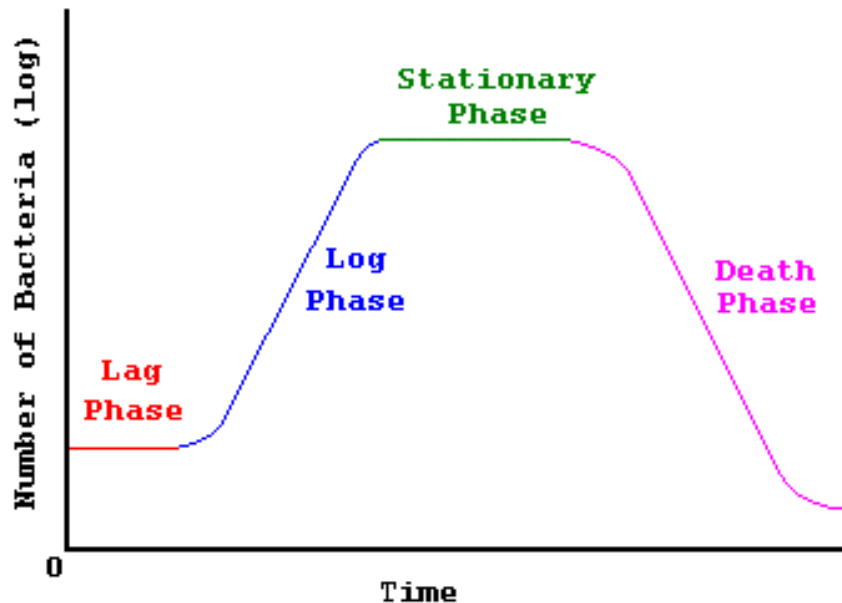
- Peso seco, húmedo
- Dispersión de luz
- Determinación bioquímica (proteínas, ADN, ATP)

Primeros intentos de estudio de la diversidad microbiana

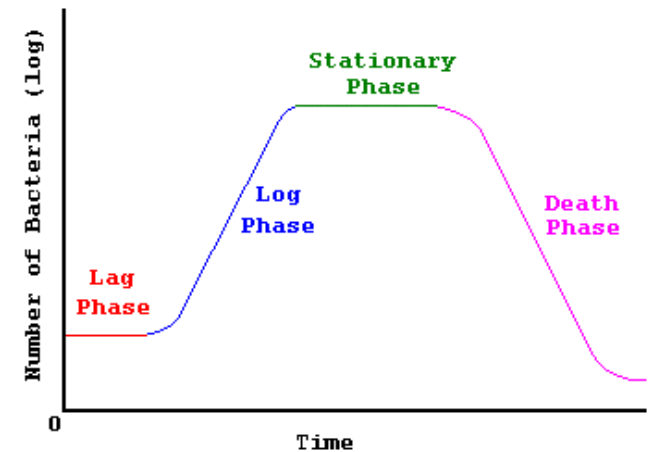


Curva de crecimiento

- Cultivo en lote o “batch”.
- Log del número de células viables vs. el tiempo de incubación.

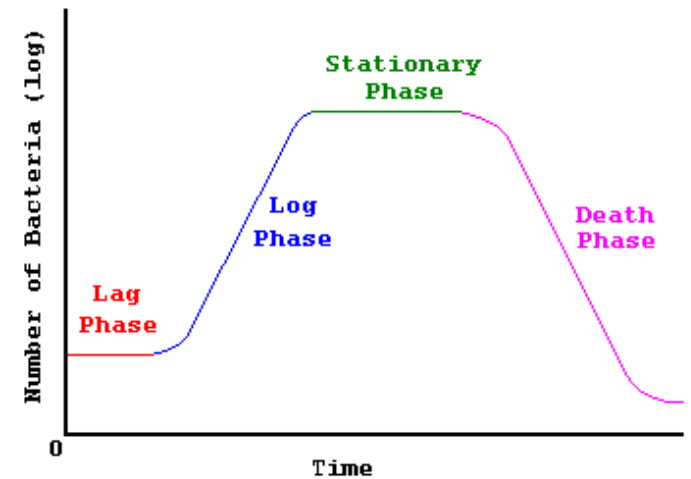


Fase lag



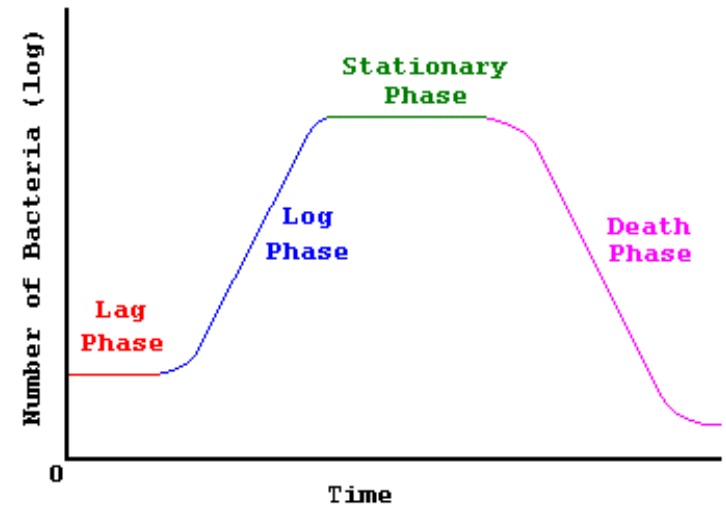
- Periodo de aparente inactividad.
- Adaptación de las células al ambiente (medio de cultivo).
- Preparación para reproducción.
- Tiempo depende de:
 - - condición del uorg
 - - condición del medio

Fase log



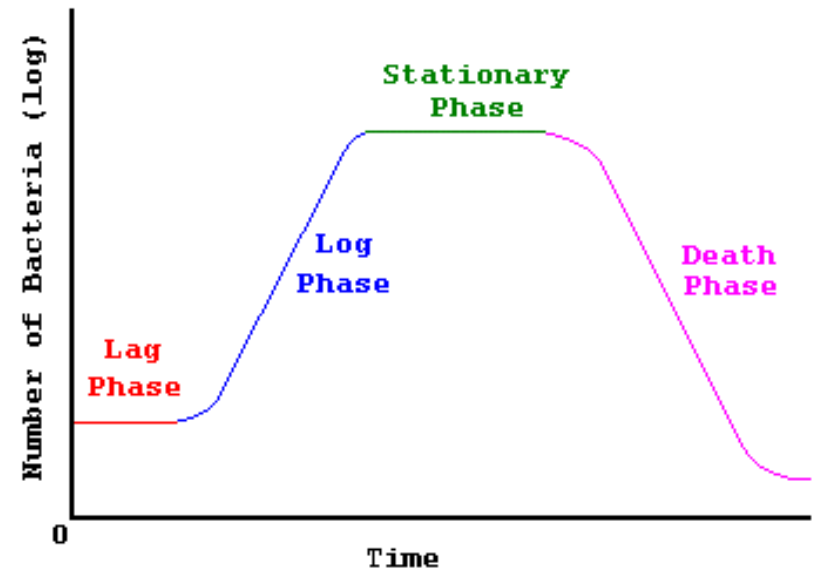
- Crecimiento a la máxima velocidad.
- Velocidad de crecimiento constante.
- Uniformidad de la población.

Fase estacionaria



- El número de uorg viables permanece constante
- Células metabólicamente activas detienen la reproducción.
- Limitación de nutrientes, acumulación sustancias tóxicas.

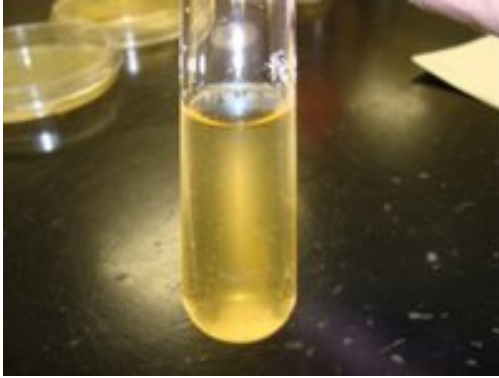
Fase de muerte



- Decline del número de células viables.
- Estructuras de resistencia en algunos casos.

Sistemas de cultivo

- Lote o Batch



<http://scienceprofonline.googlepages.com/cellbiologyhelp105>



http://www.zazzle.com/bacterial_culture_sticker-217811475912340866



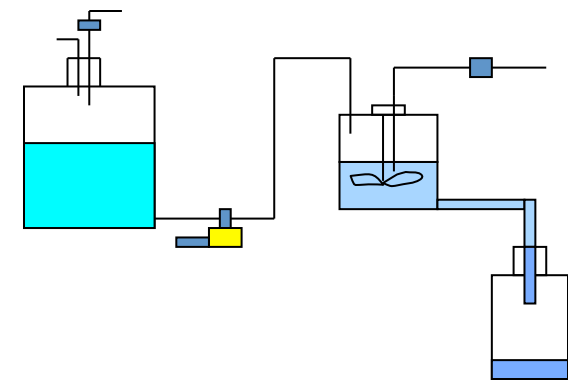
<http://www.egr.msu.edu/pel/pictures/BIBioreactor.jpg>

Sistemas de cultivo

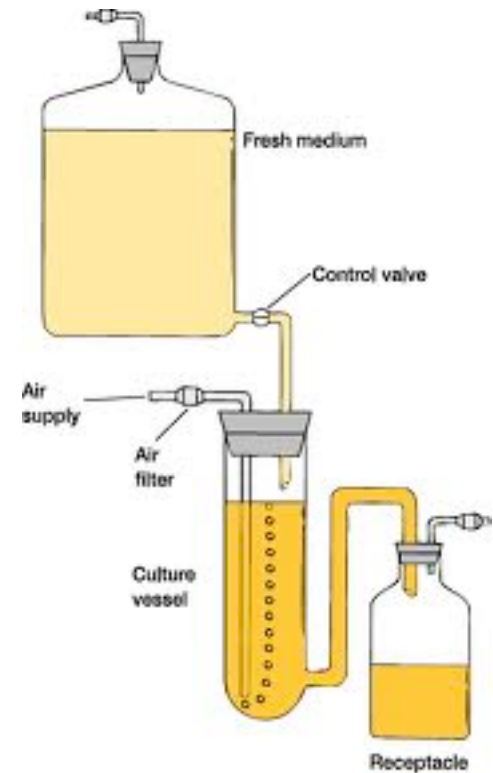
- Lote alimentado

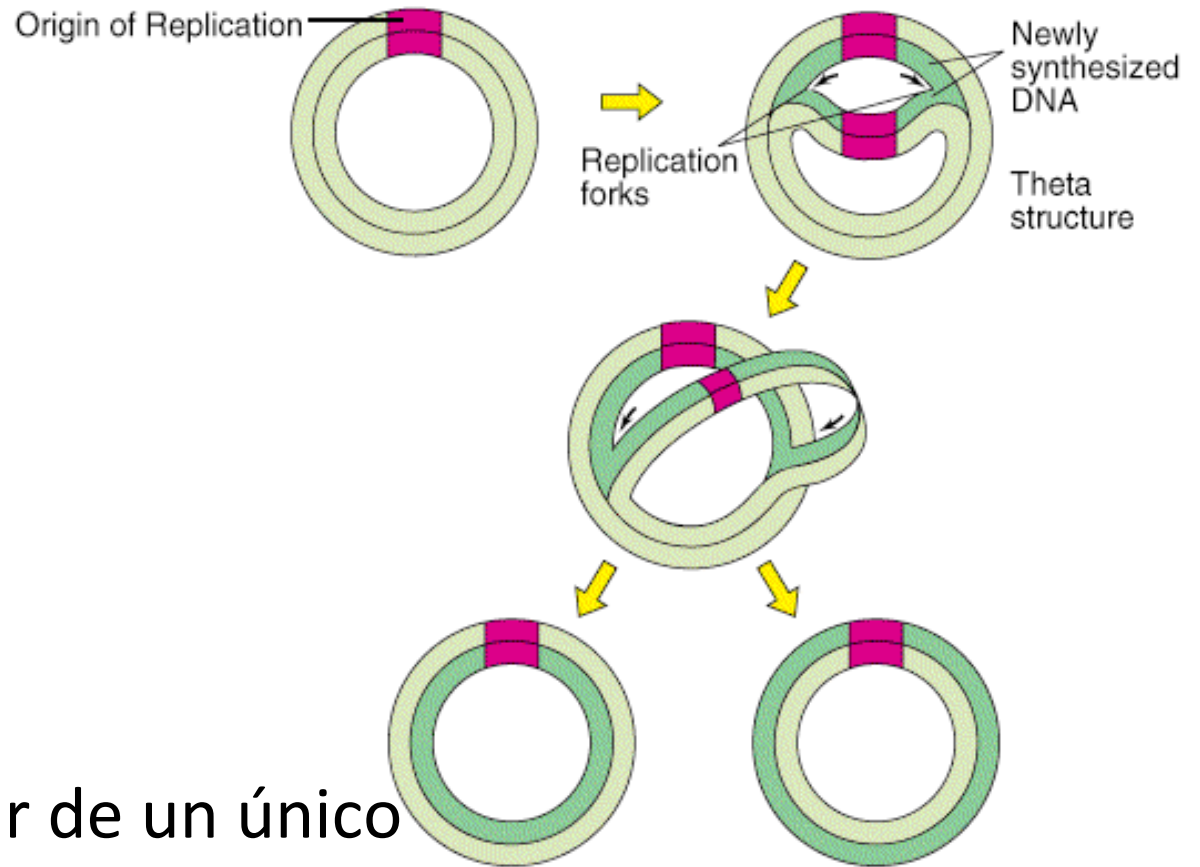


■ Cultivo continuo



- Mantiene células en fase exponencial.
- Concentración de biomasa constante.
- Entrada de nutrientes, salida de desechos (y de todo!).

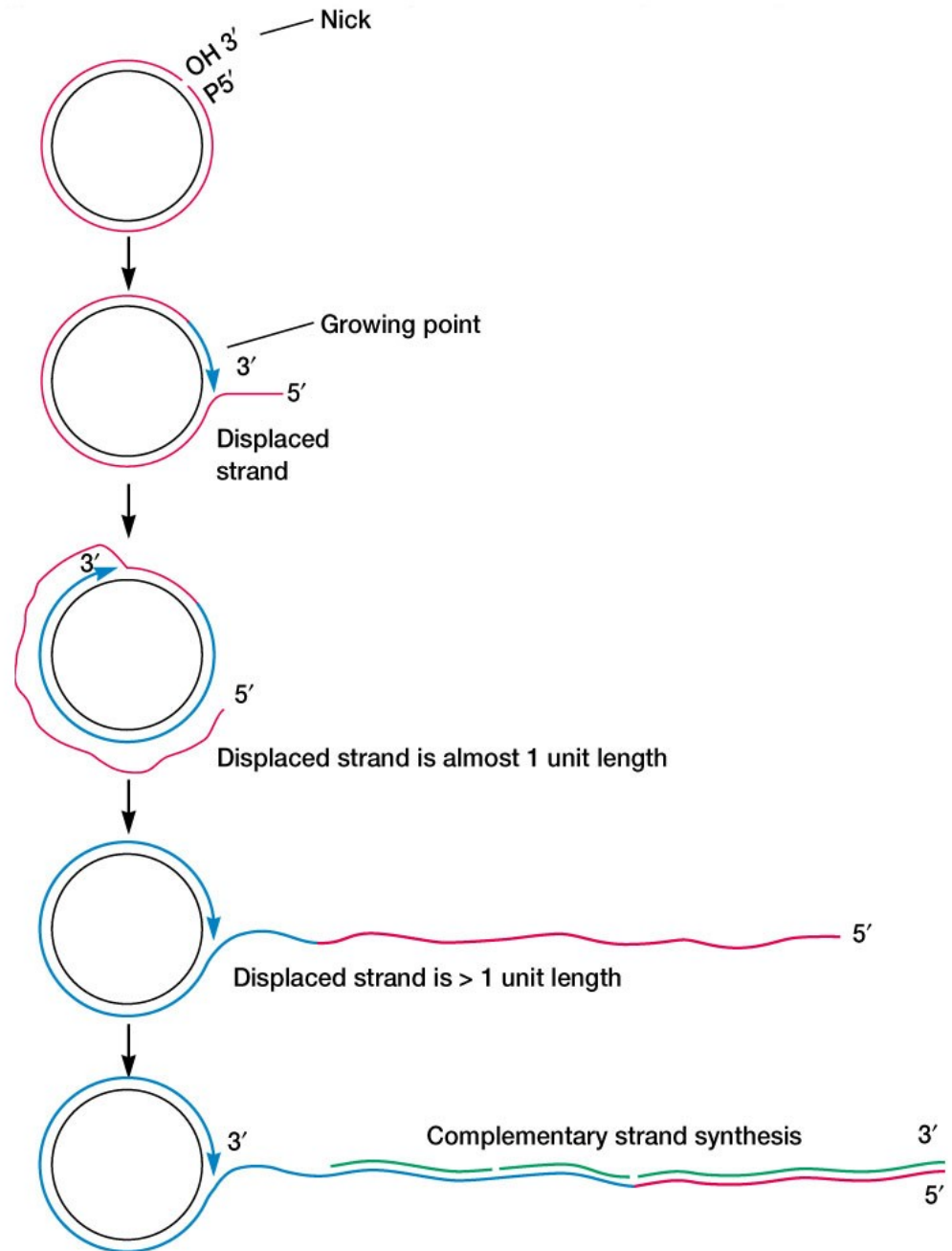


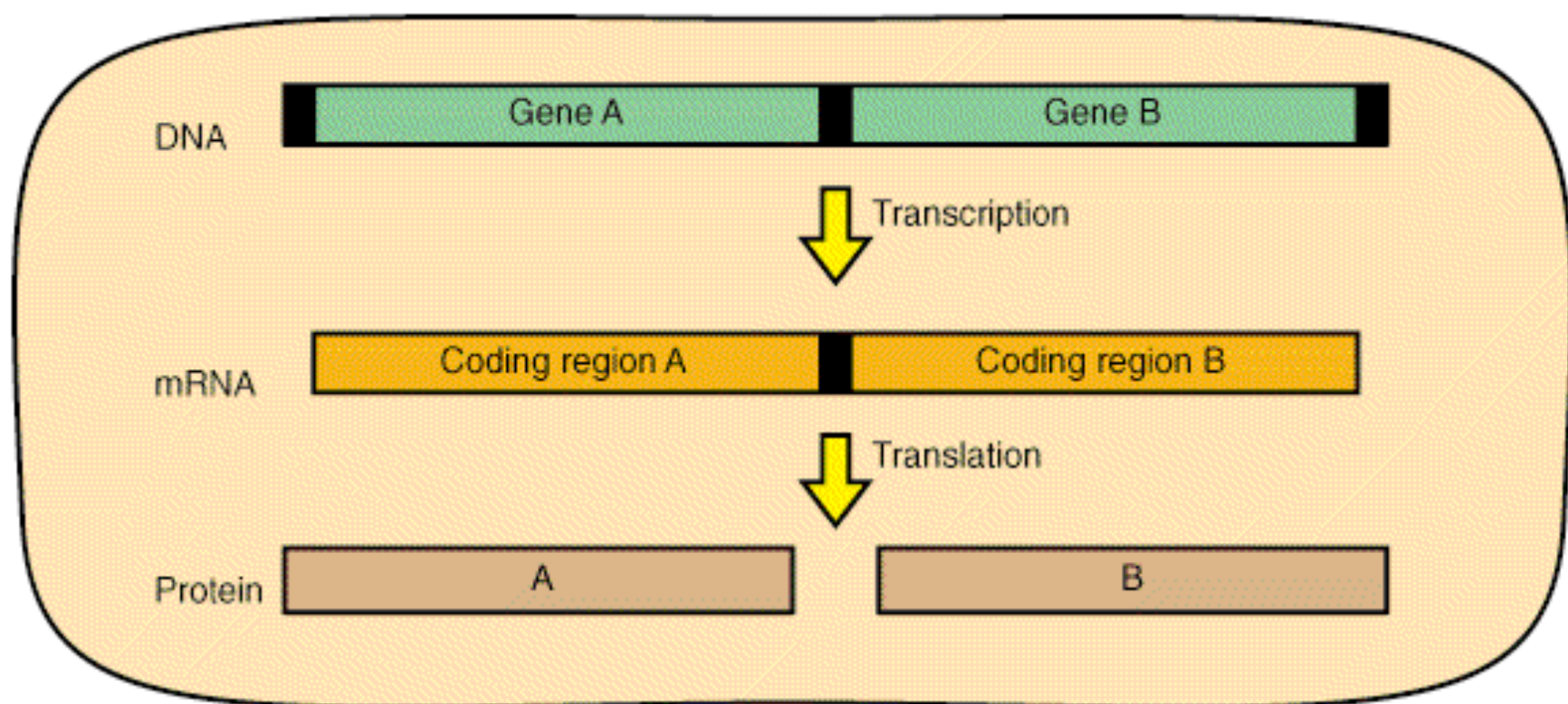


Procariotes

Bidireccional a partir de un único origen de replicación

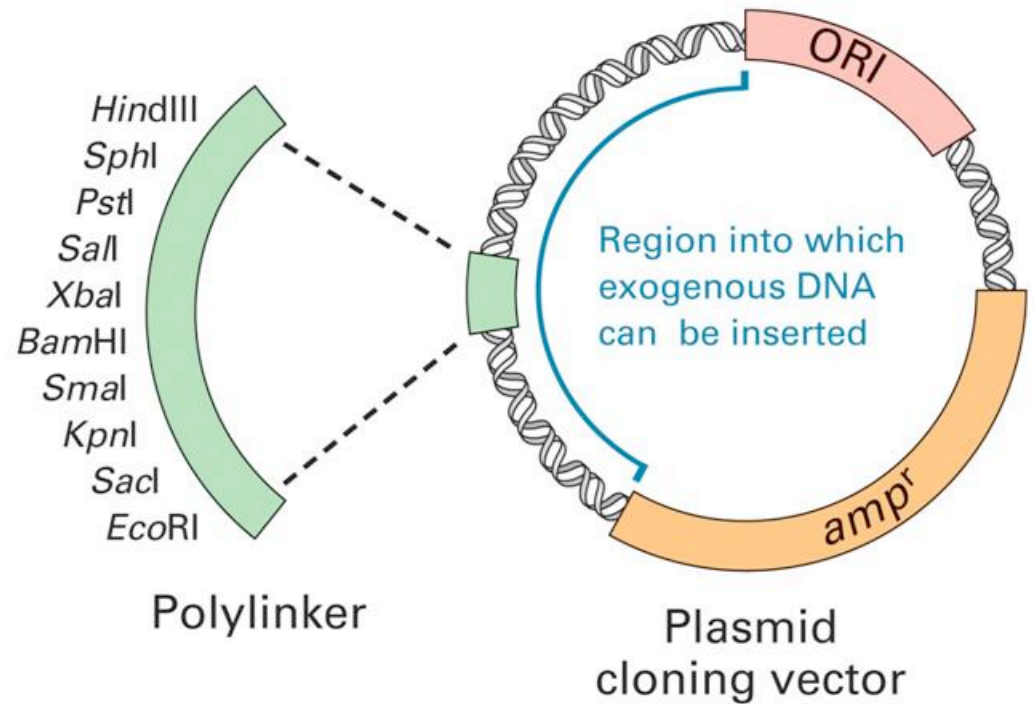
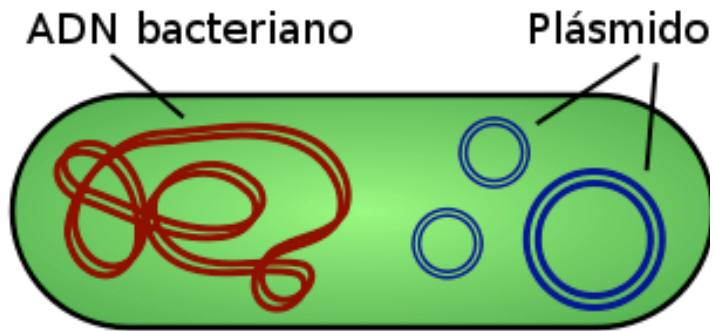
Circulo Rodante



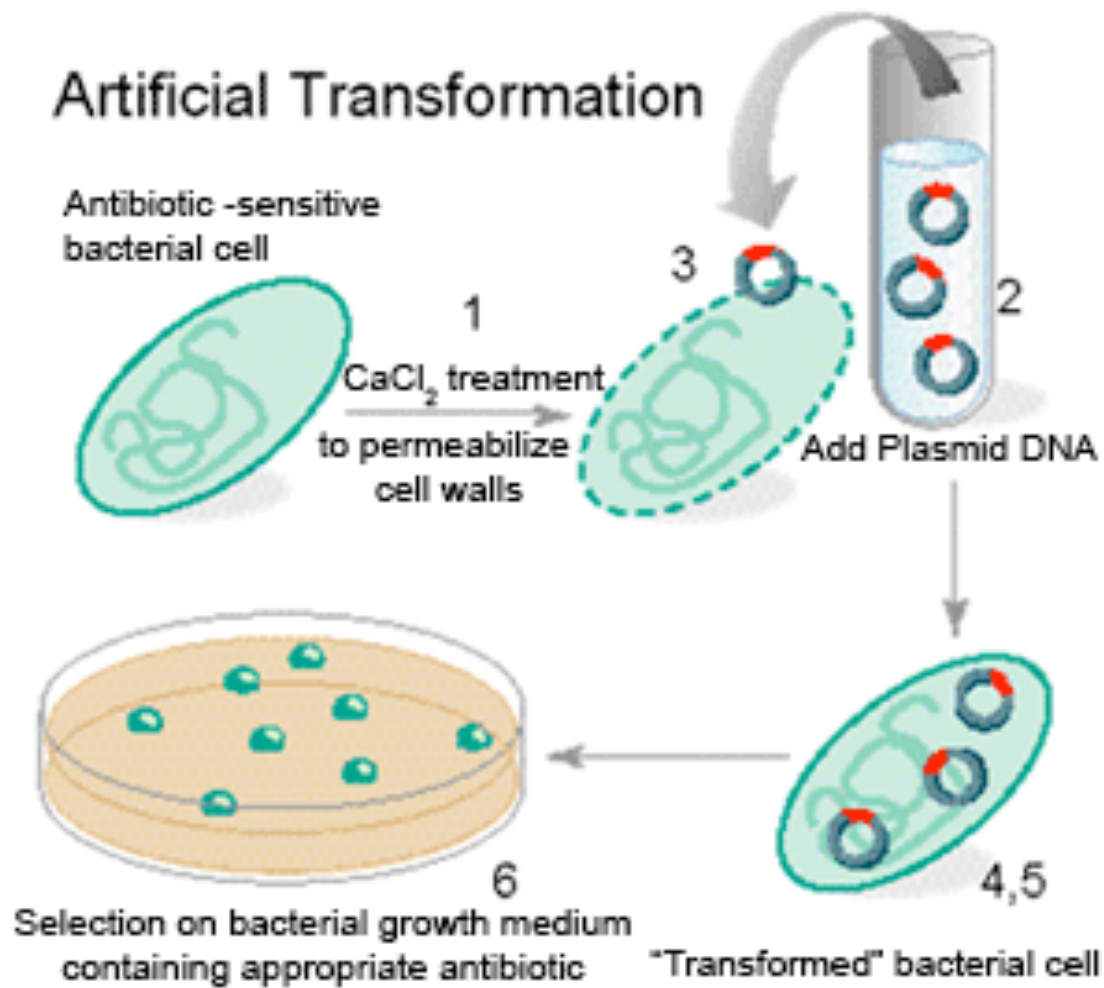


PROKARYOTE

Plásmidos

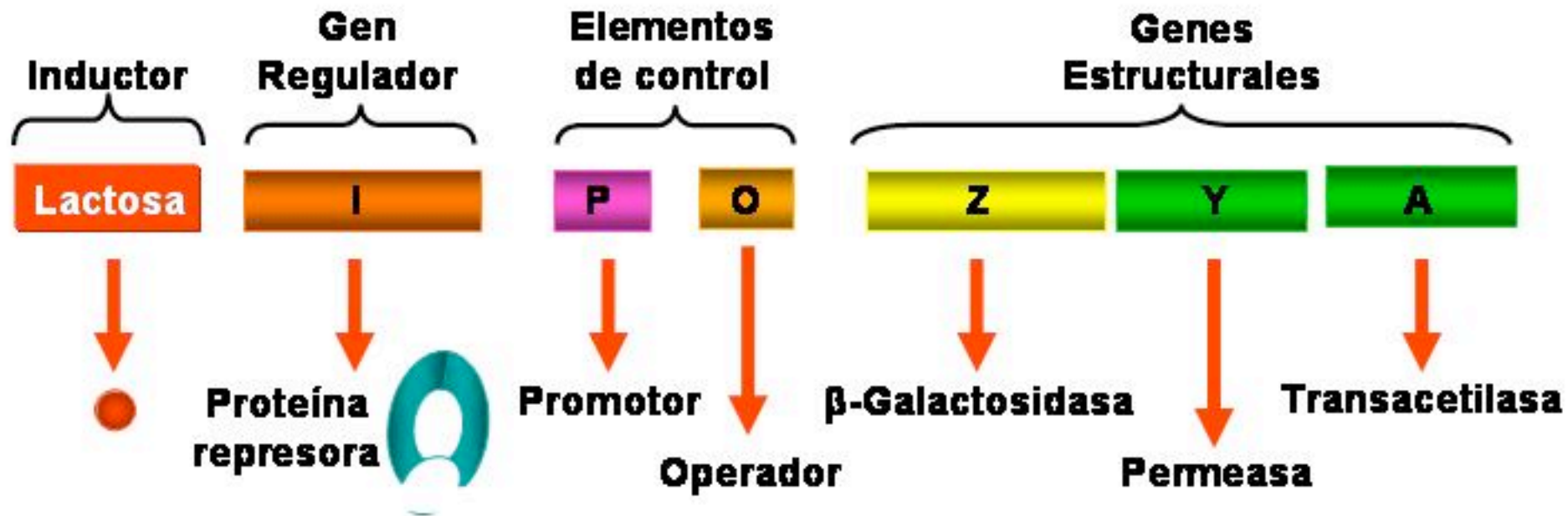


Transformación



Operones

Operón Lactosa



SITUACIÓN EN EL CROMOSOMA BACTERIANO

